

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES DE PARIS

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES MÉCANISMES D'ACTION
DES MÉDICAMENTS ET DES TOXIQUES

Année 1970-1971

Série U - N° 493

THÈSE

présentée

A L'UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES MÉCANISMES D'ACTION DES MÉDICAMENTS ET DES TOXIQUES DE
L'UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES DE PARIS

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

Maryse CASANOVA

Titre de la Thèse :

TOXICOLOGIE BIOLOGIQUE ET ANALYTIQUE DES DÉRIVÉS ORGANIQUES DU MERCURE
UTILISÉS COMME FONGICIDES EN AGRICULTURE
ÉTUDE PARTICULIÈRE DU SILICATE DE METHOXYETHYLMERCURE

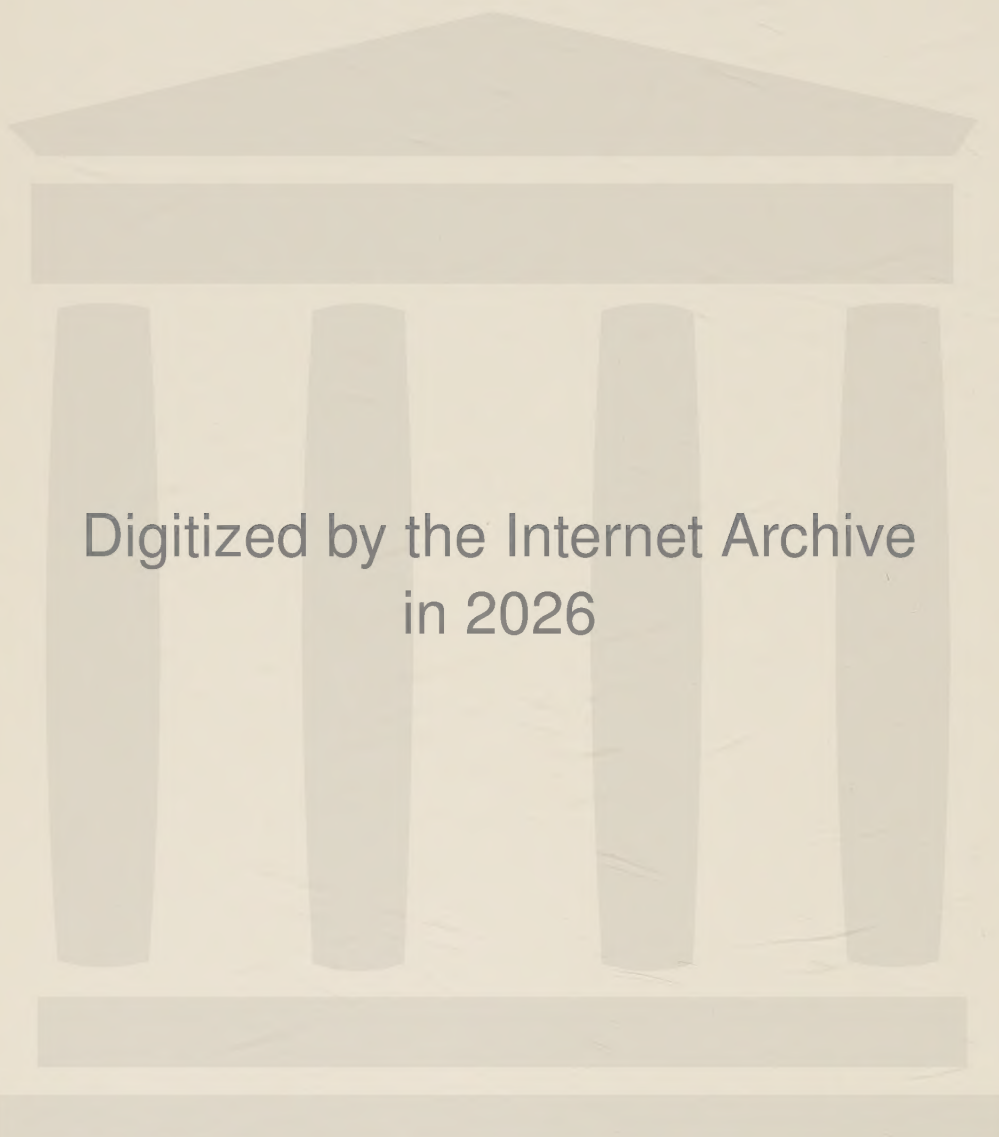
Soutenue le 21 Avril 1971

JURY : MM. R. TRUHAUT, Président

A. QUEVAUVILLER

C. BOUDENE

} Examineurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556021_0030

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES DE PARIS

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES MÉCANISMES D'ACTION
DES MÉDICAMENTS ET DES TOXIQUES

Année 1970-1971

Série U - N° 493

THÈSE

présentée

A L'UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES MÉCANISMES D'ACTION DES MÉDICAMENTS ET DES TOXIQUES DE
L'UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES DE PARIS

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

Maryse CASANOVA

Titre de la Thèse :

TOXICOLOGIE BIOLOGIQUE ET ANALYTIQUE DES DÉRIVÉS ORGANIQUES DU MERCURE
UTILISÉS COMME FONGICIDES EN AGRICULTURE
ÉTUDE PARTICULIÈRE DU SILICATE DE METHOXYETHYLMERCURE

Soutenue le 21 Avril 1971

JURY : MM. R. TRUHAUT, Président

A. QUEVAUVILLER }
C. BOUDENE } Examineurs

EMERSON'S LATE DISCOVERY IN FAITH

WITH A PREFACE BY THE AUTHOR AND A LETTER
TO THE READER BY THE EDITOR

NEW YORK

1842

THESE

THESE

THESE

THESE

THESE

THESE

THESE

THESE



THESE

THESE

THESE

A Monsieur le Professeur TRUHAUT, Membre de l'Institut, Membre de l'Académie d'Agriculture, Membre de l'Académie Nationale de Médecine, Directeur de l'U.E.R. des Mécanismes d'Action des Médicaments et des Toxiques de l'UNIVERSITE RENE DESCARTES de PARIS qui, après nous avons donné le sujet de cette thèse, a bien voulu diriger nos travaux et nous faire l'honneur de présider notre jury, nous exprimons notre profonde gratitude.

Notre reconnaissance va également

A Monsieur le Professeur QUEVAUVILLER, Directeur de l'U.E.R. d'Hygiène et de Protection de l'Homme et de son environnement de l'UNIVERSITE de PARIS-SUD,

A Monsieur le Professeur BOUDENE, Professeur à l'U.E.R. d'Hygiène et de Protection de l'Homme et de son environnement de l'UNIVERSITE de PARIS XI

qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir faire partie de ce jury,

A Monsieur BUSTARRET, Directeur Général de l'Institut National de la Recherche Agronomique qui nous a permis d'entreprendre cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de notre respectueuse et profonde gratitude.

Nos remerciements vont encore

A Messieurs les Inspecteurs Généraux de l'INRA

A Monsieur VIEL, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie de l'INRA et à Monsieur HASCOET, Maître de Recherches, qui nous ont initiée aux méthodes de recherches et permis de réaliser ce travail.

A Monsieur GIBAN, Directeur du laboratoire des Petits Vertébrés de l'INRA et à Monsieur GROLLEAU, Ingénieur, qui nous ont accueillie dans leur laboratoire pour y réaliser nos expériences toxicologiques et nous ont aidée de leurs conseils en maintes occasions

Enfin à tous ceux qui nous ont apportée leur aide au cours de
la réalisation de ce travail.

— • — • — • — • — • — • —

I N T R O D U C T I O N

Ces dernières décennies ont vu la découverte de nombreux composés organiques de synthèse, doués de fortes activités contre les insectes et les cryptogames parasites. L'industrie a mis ainsi à la disposition des agriculteurs des moyens de lutte efficaces contre les ravageurs, parasites et déprédateurs des cultures et des récoltes.

La lutte chimique largement appliquée par le monde a permis d'augmenter considérablement les rendements de la production et la qualité des produits récoltés. De plus l'expansion démographique qui se poursuit sur une large partie du globe, rend impérieuse la protection des ressources vivrières au moment où une fraction importante de la population est encore sous alimentée.

Mais l'usage des pesticides n'est pas dépourvu d'inconvénients, en raison de leurs toxicités à l'égard de l'homme et des animaux, toxicités qui ont imposé aux toxicologues et hygiénistes des études approfondies sur les propriétés biologiques des composés utilisés et des risques associés à leur emploi.

Dès le début de la diffusion de l'emploi des composés de l'arsenic, RAUCOURT et ses collaborateurs (65, 66, 67) se préoccupèrent du sort de l'arsenic utilisé sur les pommes de terre et dans les vergers et des résidus laissés sur les fruits. Quelques années plus tard, FABRE, TRUHAUT et VIEL (23) puis TRUHAUT (88, 89, 90, 91, 92, 93, 97, 98, 99) à différentes

reprises, ont analysé les différents risques de toxicité liés à l'emploi des pesticides en agriculture ; risques non seulement pour les sujets chargés de la fabrication, du stockage et de l'épandage des produits, mais également pour les consommateurs de denrées d'origine végétale ou même animale pouvant contenir des résidus de pesticides.

Si les risques professionnels peuvent être évités par le respect de règlement d'hygiène et de sécurité reposant sur les toxicités aiguë, à court terme et long terme, la protection du consommateur nécessite la connaissance des toxicités à long terme. Ces dernières peuvent résulter de l'absorption répétée de doses même très minimales : insuffisantes pour entraîner dans l'immédiat des effets toxiques, ces doses peuvent provoquer des intoxications beaucoup plus insidieuses dues notamment à deux facteurs principaux : les propriétés cumulatives ou l'aptitude à la sommation des effets des pesticides.

Le toxicologue devra en outre tenir compte des renseignements fournis par l'étude des facteurs conditionnant le degré de persistance des pesticides non seulement dans les aliments sous forme de résidus, mais aussi dans les atmosphères, les eaux, les sols : cela afin d'évaluer toutes les conséquences de l'utilisation des pesticides pour l'homme et son environnement.

Avec le mercure et ses dérivés, ce problème n'est pas seulement lié aux usages agricoles. Le mercure est en effet un élément ayant de multiples usages qu'il s'agisse de son emploi dans l'industrie du chlore, dans la catalyse, ou bien encore en électronique, dans l'industrie de la pulpe de bois et du papier, en médecine, dans les préparations dentaires et dans presque tous les laboratoires.

Une statistique parue récemment dans "Chemical and Engineering News" (14) et se rapportant aux Etats-Unis, donne les valeurs suivantes :

Consommation de mercure en 1969 (exprimée en tonnes)

Electrolyse du chlore	786
Appareillage électrique	691
Peintures	369
Instruments divers	195
Catalyse	110
Préparations dentaires	104
<u>Agriculture</u>	<u>102</u>
Utilisation de laboratoire	63
Industrie pharmaceutique	26
Industrie de la pulpe et du papier	21
Usages divers	541

La majeure partie des déchets mercuriels se retrouverait dans les eaux, les sédiments et par le phénomène de la chaîne alimentaire, contaminerait les poissons. Au Japon, des teneurs élevées de mercure ont été signalées dans les poissons de la baie de Minimata : en Suède, aux Etats-Unis, au Canada, des teneurs anormalement élevées ont été également trouvées dans les poissons et des mesures restrictives à leur consommation ont dû être imposées.

De plus, récemment, on a pu observer qu'il peut y avoir un processus d'alkylation biologique capable de transformer le mercure minéral en dérivés du méthylmercure [JENSEN et JERNELOV (42) • WOOD, KENNEDY et ROSEN (104)].

Le Laboratoire de Phytopharmacie et le Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Industrielle de la Faculté de Pharmacie de Paris ont accordé une attention particulière à l'étude de la toxicologie du mercure et de ses dérivés en raison même de sa toxicité et de ses multiples usages.

En agriculture, en France notamment, en raison de son potentiel toxique, l'application des dérivés du mercure est demeurée fort restreinte : elle est strictement limitée à la désinfection des semences. L'apparition

des composés organiques du mercure avait permis cette utilisation agricole. Les composés à base de phénylmercure, puis de méthoxyéthylmercure ont été largement utilisés. Ils ont été dans certains pays abandonnés au profit des dérivés du méthylmercure (en Suède notamment).

Cependant les dérivés du méthylmercure ont été accusés par les ornithologistes d'occasionner des empoisonnements sévères des oiseaux granivores et leur utilisation est maintenant interdite en Suède.

Les composés alkoxyalkylmercure considérés comme moins dangereux sont par contre toujours employés.

Si les recherches sur les composés méthylmercure et phénylmercure ont été importantes, elles sont peu nombreuses pour les dérivés alkoxyalkylmercure.

Les produits pour la désinfection des semences utilisés en France appartiennent à ce groupe.

Aussi le Professeur TRUHAUT, nous a-t-il demandé de procéder à l'étude de la toxicologie biologique et analytique du silicate de méthoxyéthylmercure.

La tâche nous a été facilitée alors par l'existence d'une méthode de dosage du mercure sous forme minérale sensible et spécifique, mise au point par FABRE, TRUHAUT et BOUDENE.

Dans cette perspective notre travail comprendra trois parties :

- La première partie est consacrée aux problèmes généraux ainsi abordés :

- . Les différentes étapes de la mise au point des composés organo-mercuriels
- . Leur utilisation en agriculture et dans l'industrie
- . Un résumé sur la connaissance de la toxicologie du mercure et de ses dérivés.

- La deuxième partie comporte une étude critique des différentes techniques analytiques de dosage du mercure et la description des méthodes utilisées au cours de notre travail.
- La troisième partie sera consacrée à l'étude de la toxicologie biologique et analytique du silicate de méthoxyéthylmercure. Nous avons en particulier examiné :
 - . La toxicité aiguë du silicate de méthoxyéthylmercure
 - . La toxicité à court terme (ou semi-chronique) du silicate de méthoxyéthylmercure
 - . L'étude de la répartition du mercure dans l'organisme et de son élimination au cours des intoxications expérimentales chez le rat
 - . La présence de mercure dans quelques animaux sauvages et sa signification toxicologique.

CHAPITRE I

GENERALITES

I - HISTORIQUE

La puissante action bactéricide et fongicide des sels de mercure est connue depuis fort longtemps ; ce n'est cependant qu'au XVIIIème siècle qu'en fut entreprise l'étude scientifique. C'est TESSIER qui le premier nota le pouvoir assez élevé du chlorure mercurique sur la carie du blé. Benedict PREVOST poursuivit en ce sens. Ces premières recherches demeurèrent cependant longtemps isolées. L'intérêt porté à l'étude des sels de mercure parut décliner pendant près d'un siècle. Peut-être faudrait-il en chercher les raisons dans le succès du sulfate de cuivre qui accaparait alors l'attention.

Il faudra attendre les années 1890 pour voir se manifester un nouvel intérêt pour les sels mercuriques. Des expériences furent à cette date réalisées en Allemagne par KELLERMAN et SWINGLE (45) qui mirent en évidence l'excellente action fongicide du chlorure mercurique. En 1891, BOLLEY (II) aux Etats-Unis l'utilisa avec succès contre la galle et le rhizoctone de la pomme de terre. En 1915, en Allemagne, HILTNER (38) nota à son tour l'efficacité de ce même produit contre la fusariose du seigle au stade conidien.

En 1934, les travaux de MAC CALLAN et WILCOXON (54) permirent enfin de situer avec précision la valeur fongicide du mercure et des sels mercuriques,

TABLEAU I

Classement des métaux en fonction de leur degré d'activité sur différentes espèces de champignons

(MAC CALLAN et WILCOXON)

Métaux	Monilinia (spores)	Botrytis (spores)	Pestalozzia (spores)	Uromyces (spores)
Mercure	4	2	2	2
Argent	I	I	I	I
Nickel	5	8	8	7
Cobalt	7	7	6	8
Cadmium	2	3	5	4
Cuivre	3	5	3	3
Zinc	8	6	7	6
Plomb	6	4	4	5

Il résulte clairement de ces travaux que si l'on classe les métaux utilisés dans un ordre de fongitoxicité approximativement décroissant, nous obtenons le schéma suivant :

Ag > Hg > Cu > Cd > Ni > Pb > Co > Zn

Si on élimine l'argent dont les sels sont de prix de revient trop élevé, c'est le mercure qui se place au 1er rang devant le cuivre d'ailleurs.

Pourtant la législation française a longtemps interdit "la vente et l'emploi des produits contenant de l'arsenic, du plomb, du mercure, pour le chaulage des céréales, l'embaumement des cadavres, ainsi que pour la destruction des mauvaises herbes dans les allées des jardins, les cours, les terrains de sport" (décret du 14 Septembre 1916 - Article XI). Et il faut attendre 1941, pour que la circulaire du 18 Mai, du Ministère de l'Agriculture (sans abroger le décret précité) offre aux agriculteurs la possibilité d'utiliser les sels mercuriques sous forme de composés organomercuriels.

Cette réserve du législateur n'était pas surprenante si l'on considère que les résultats des travaux accomplis de 1890 à 1935 étaient loin d'être entièrement favorables à l'usage du mercure et des sels mercuriques. Les problèmes posés par l'utilisation du sublimé corrosif Cl_2Hg sont un exemple significatif de ces difficultés soulevées par les produits mercuriques : l'action fongicide du sublimé fut trouvée excellente (notamment après les expériences de KELLERMAN et SWINGLE en 1890 en Allemagne), mais les chercheurs (aussi bien KELLERMAN, SWINGLE, HILTNER en Allemagne, que BOLLEY aux Etats-Unis) avaient noté en même temps sa très haute toxicité et son effet néfaste sur le pouvoir germinatif de certaines semences traitées.

Il fallait donc parvenir à mettre à la disposition des agriculteurs des spécialités phytopharmaceutiques aptes à être utilisées aux moindres risques, pour la totalité des semences appelées à être désinfectées. Aussi, en raison des inconvénients présentés par le chlorure mercurique, la recherche (menée principalement par les firmes de produits chimiques) fut orientée vers les composés organiques du mercure. Le mercure donne facilement des combinaisons organiques, et cette facilité de préparation des organomercuriques, a conduit à l'apparition d'un grand nombre de combinaisons destinées à la désinfection des semences.

Aussi à partir de 1912 en Allemagne avec RIEHM (70), REMY et VASTERS (69) (1914), aux Etats-Unis avec TISDALE et CANNON (36) (1926), cette propriété du mercure suscita-t'elle de nombreuses études.

Ces dérivés organomercuriels possèdent la structure chimique $R-Hg-X$, R est un radical carboné organique, alcoyle, ou alcoxy-alcoyle ou aryle. Le groupement X (halogène, oxhydryle ...) est lié au mercure par une liaison ayant plus ou moins le caractère d'un sel ; dans ces composés, le mercure n'est plus dialysable et ne donne plus les réactions analytiques classiques.

Ces composés sont le plus souvent incolores, solides à température ambiante. Leur volatilité dépend à la fois du radical organique et de l'anion. Ainsi les composés alcoyle-mercure ont une volatilité plus grande que celle des dérivés aryle ou alkoxy-alcoyle. L'anion peut modifier considérablement la volatilité.

La solubilité est fonction également du radical organique et de l'anion. La solubilité dans l'eau des dérivés du phényl-mercure est plus faible que celle des dérivés alcoyle-mercure ayant le même anion. Les halogénures ont en général une solubilité limitée dans les solvants polaires, et une solubilité plus élevée dans les solvants apolaires ; les hydroxydes sont en général entièrement solubles dans l'eau.

LES PRINCIPAUX COMPOSES ORGANOMERCURIELS

Nous reproduisons la liste des principaux composés synthétisés à ce jour ; cette liste a été établie par la FAO.

Nous pouvons constater que les recherches ont abouti à l'obtention d'un nombre important de composés organomercuriels.

Parmi ces composés, une vingtaine sont utilisés comme fongicides en agriculture.

I°) - Composés d'alcoyle-mercure

a) - Composés du méthyl mercure $Me\ Hg\ X$

Dicyandiamide de méthyl mercure

Iodure de méthyl mercure

Acétate de méthyl mercure
Nitrile de méthyl mercure
Propionate de méthyl mercure
Sulfate de méthyl mercure
P chloro benzoate de méthyl mercure
Pentachlorophénate de méthyl mercure
Oxynate de méthyl mercure
2-3 dihydroxy propyl mercaptide de méthyl mercure
N-méthyl mercure -1,2,3,6 tétrahydro 3-6 endométhano-3,4,5,6,7 -
7-hexachloro phtalimide

b) - Composés de l'éthyl mercure Et Hg X

Chlorure d'éthyl mercure
Phosphate d'éthyl mercure
Sulfate d'éthyl mercure
Silicate d'éthyl mercure
Oléate d'éthyl mercure
Stéarate d'éthyl mercure
Hydroxyde d'éthyl mercure
Pentachlorophénate d'éthyl mercure
Urée d'éthyl mercure
Acétone d'éthyl mercure
8-hydroxy quinoléate d'éthyl mercure
P toluène sulfonalide

2°) - Composés d'alcoxy-alcoyle mercure R O (C H₂) Hg X

Acétate de méthoxy éthyl mercure
Dicyandiamide de méthoxy éthyl mercure
Benzoate de méthoxy éthyl mercure
Lactate de méthoxy éthyl mercure
Silicate de méthoxy éthyl mercure
Chlorure de méthoxy ét'yl mercure
Hydroxyde de méthoxy éthyl mercure
I-carboxy-3-éthoxy éthyl mercure propane dicarboxylate-2,3
Chloro méthoxy propyl méthyl acétate
Chlorure d'éthoxy éthyl mercure

3°) - Composés d'aryle mercure Ar - Hg - X

Nitrate de phényl mercure
Hydroxyde de phényl mercure
Iodure de phényl mercure
Benzoate de phényl mercure
Lactate de phényl mercure
Oléate de phényl mercure
Propionate de phényl mercure
Naphténate de phényl mercure
Pyrocatechinat de phényl mercure
Chlorure de phényl mercure
Iodure de phényl mercure
Urée de phényl mercure
Salicylate de phényl mercure
Lactate de triethanolammonium phényl mercure
Formamide de phényl mercure
Succinate dodecenyl diphényl mercure
Méthanol dinaphto disulfonate de phényl mercure
N-N diméthyl dithiocarbamate de phényl mercure
Chlorure de tolyl mercure
P-toluène sulfonamilide de N-tolyl mercure

II - L'UTILISATION DES COMPOSES ORGANOMERCURIELS DANS L'AGRICULTURE ET
L'INDUSTRIE

A - L'UTILISATION DES COMPOSES ORGANOMERCURIELS EN AGRICULTURE

I°) - Désinfection fongique des semences

La désinfection des semences est entrée dans la pratique il y a maintenant un siècle et demi ; en effet transmissibles par la semence, bon nombre de maladies sont de ce fait, justiciables de traitements dont l'efficacité n'est plus à démontrer et dont le coût est peu élevé.

Peu à peu et grâce à la mise en circulation des composés organomercuriels, les avantages de cette méthode de lutte appliquée alors aux céréales se sont étendus progressivement à d'autres types de semences : lin, betterave, crucifères, colza, tournesol, pomme de terre, semences de cultures légumières...

Il faut toutefois préciser que si le traitement des semences permet d'éliminer facilement les spores de champignons ou de bactéries qui adhèrent à la surface des téguments de la graine, son action est plus délicate lorsque le mycélium ou les fructifications du champignon sont enfoncés dans les téguments (fusarium) ; elle devient difficile dans le cas des charbons nus (du blé et de l'orge), le mycélium latent se trouvant inclus dans l'embryon du grain. Pour cette catégorie de parasites à contamination interne, il faut alors avoir recours aux fongicides systémiques modernes qui agissent efficacement après pénétration dans la semence. Mais en ce qui concerne les parasites à contamination externe, de loin les plus nombreux, ce sont les composés organomercuriques qui présentent, toujours actuellement, l'efficacité la plus élevée et le spectre d'activité le plus étendu.

C'est ainsi par exemple que le silicate de méthoxyéthylmercure, encore très largement utilisé, permet par un simple enrobage à sec, de débarrasser les semences d'un grand nombre d'espèces pathogènes susceptibles d'inhiber leur germination (agents de la fonte des semis) ou de détruire les épis (maladies charbonneuses). Au prix d'une dépense minime en matière active, représentant en moyenne 3 g de mercure par quintal de semences, on peut se prémunir des attaques des principaux parasites comme : la carie, la septoriose et la fusariose du blé, l'helminthosporiose de l'orge, les charbons externes de l'orge et de l'avoine, le Phoma de la betterave et du colza, le Cercospora de la betterave, les Alternaria du colza et du lin, l'Ascochyta du lin, le botrytis du lin et du tournesol, le Sclerotinia du tournesol.

a) - Les procédés de traitement

La toxicité propre des dérivés du mercure et l'usage à grande échelle des traitements des semences n'a pas été sans susciter certaines réserves. C'est pourquoi si l'on a constaté une évolution dans les formulations permettant de disposer à l'heure actuelle de produits formulés titrant 1.5 % de mercure, on note aussi une évolution des techniques de désinfection, qui tend à réduire les risques que peuvent représenter pour le manipulateur la poussière produite pendant le traitement.

Si les procédés de traitement par trempage et aspersion ont été les premières méthodes utilisées, elles ont été depuis abandonnées, car elles mettaient les graines en position favorable pour germer.

La technique de traitement par poudrage demeure quant à elle la plus utilisée. De plus en plus perfectionnée, elle n'est toutefois pas sans inconvénients ; en effet, lors du mélange, il peut se former un nuage de poussière insupportable et gênante, sinon dangereuse, lorsque le produit fongicide est irritant ou toxique. Par ailleurs, lors des manipulations des semences traitées, l'adhérence parfois insuffisante des poudres peut entraîner une perte de principe actif, et être ainsi la cause d'une efficacité réduite. Pour augmenter cette adhérence deux techniques sont maintenant utilisées : l'emploi de fongicides liquides concentrés et le poudrage humide. La technique utilisant les fongicides liquides concentrés est évidemment toute différente de l'emploi des solutions diluées. Le fongicide liquide dans cette méthode est mélangé directement à la semence dans des appareils qui brassent l'un et l'autre élément.

Le poudrage humide s'effectue en procédant à un humectage léger des semences à l'aide d'une faible quantité d'eau avant la distribution de la poudre (environ 0,5 litre d'eau par quintal).

Celle-ci qui contient des adjuvants spéciaux, se dissout partiellement dans l'eau d'humidification des graines ; il en résulte la formation d'un film continu et plastique qui retient avec force le fongicide à la surface de la cuticule.

Il est à noter que dans ces deux derniers cas, on évite la formation de poussières ; fait qui n'est pas négligeable si l'on considère les dangers que celles-ci comportent en raison de leur forte toxicité.

L'efficacité des procédés de désinfection des semences étant désormais solidement établie, il reste à fournir aux utilisateurs des produits aptes à servir, sans risque, à la désinfection générale de toutes les catégories de semences. Dans la gamme des spécialités commerciales, quatre ou cinq substances chimiques s'imposent à l'attention par leur ef-

ficacité particulière : actif mais irritant et désagréable à l'emploi, le thirame, n'est pas le désinfectant polyvalent idéal et il ne se prête pas à la confection de formules triples généralement réclamées par les utilisateurs. Formule organique non toxique, l'oxyquinoléate de cuivre a obtenu un rapide succès sur le marché. Son efficacité est cependant inférieure à celle des organomercuriques et presque nulle notamment en ce qui concerne les charbons externes (de l'avoine et de l'orge). Deux autres produits, le manèbe et le mancozèbe, possèdent une gamme d'activité plus étendue que celle de l'oxyquinoléate de cuivre. Les recherches sur leur stabilité sont cependant encore en cours aussi ne peut-on entièrement les comparer aux organomercuriques. Ceux-ci demeurent pour l'instant les produits les plus efficaces et les plus polyvalents.

b) - Effets des traitements aux organomercuriels sur la germination des semences et le développement de la plante

Parallèlement à l'application des organomercuriels en traitement de semences, des études ont été réalisées en France et à l'Etranger afin d'observer l'influence de ces produits sur la germination et le développement des plantes issues de semences traitées.

ROTH (72) procédant en Allemagne à des essais sur orge et avoine, observa en laboratoire sur gravier et terre, qu'au début les semences non désinfectées germent plus vite que les semences désinfectées, mais qu'après un certain temps, la situation se renverse. Non seulement les semences traitées ont un pouvoir germinatif plus élevé, mais en outre les retards de germination disparaissent au bout de quelques jours.

Comment expliquer alors certaines mauvaises levées de semences traitées avec ces mêmes organomercuriels, d'où vient cette action phytotoxique ? JUILLET (44), GUILLEMAT et LAMBERT (34), PONCHET (17), ARNOUX (2) pour la France, ont essayé d'en rechercher les mécanismes d'action. On a pu constater dans certains cas avec des semences de céréales traitées, mises à germer sur papier buvard humide ou en terrines plates contenant du terreau, du sable, d'une part une diminution du pourcentage de germination,

d'autre part, des symptômes d'intoxication qui vont se manifester tout d'abord sur les racines, leur partie sub-terminale est renflée, il y a arrêt de la croissance. Les coléoptiles moins sensibles prennent également un aspect renflé caractéristique.

On a mis en évidence que le dosage est un facteur important de phytotoxicité : il ne faut pas utiliser des doses trop élevées d'organomercuriels. Certains composés sont plus phytotoxiques que d'autres.

La nature du composé intervient également.

L'humidité de la semence est un facteur défavorable pour la conservation, les organomercuriels pouvant alors entraîner une phytotoxicité directe ; par ailleurs l'humidité favorise le développement de moisissures qui peuvent être sélectionnées comme nous l'avons déjà dit par les organomercuriels, les moisissures ont une influence néfaste sur la faculté germinative.

Les espèces, sinon, les variétés auxquelles appartiennent les semences, auront également leur importance, leur sensibilité pouvant varier d'une espèce à l'autre et pour une même espèce, d'une variété à l'autre.

Dans certaines circonstances, les conditions du milieu au moment de la levée peuvent avoir une certaine influence sur la phytotoxicité.

Mais l'on peut dire que dans des conditions normales, les composés organomercuriels n'ont pas d'influence défavorable sur la faculté germinative des semences et sur le développement des plantes.

2°) - Autres possibilités d'utilisation des composés organomercuriques

Si le traitement des semences constitue une méthode satisfaisante de lutte contre certains parasites des plantes, dans bien des cas cependant, il sera nécessaire d'avoir recours à des traitements de sols ou des traitements des organes aériens des végétaux.

- La lutte contre les parasites du sol est très délicate, mais elle peut être utile. En effet certains parasites ne peuvent être atteints qu'au cours de leur phase de repos. Elle est destinée à prévenir les fontes des semis, les sclérotinias, les flétrissures, les dépérissements .. Cette désinfection du sol devra tenir compte des micro-organismes non pathogènes qu'elle devra éviter de détruire.

L'utilisation des composés organomercuriques est préconisée dans certains pays, car ils sont très actifs contre les rhizoctonias, les pythiums .. En France, leur utilisation est interdite. Une meilleure connaissance du devenir du mercure dans le sol, de son passage éventuel dans les plantes cultivées sur des sols traités, des relations entre l'absorption des résidus, les types de sols, les différentes espèces et les teneurs en résidus de ces mêmes plantes, pourrait seule permettre de revenir éventuellement sur cette interdiction.

- Les traitements des organes aériens des végétaux sont d'une importance bien connue de tous. Deux types de traitement pourraient nécessiter l'utilisation des composés organomercuriels. D'une part les traitements préventifs qui sont de loin les plus importants et qui doivent empêcher le parasite de pénétrer dans les tissus ; d'autre part, les traitements curatifs qui sont les plus délicats à réaliser car il faut arrêter l'infection pendant le stade d'incubation.

Quelques composés organomercuriques ont manifesté une action curative partielle contre les tavelures des arbres fruitiers. Ils n'auraient vraisemblablement pas d'action préventive.

Les composés ayant donné des résultats satisfaisants semblent être des dérivés du phényl-mercure : acétate, chlorure, nitrate et lactate de phényl mercure triéthyl ammonium.

La législation française ne permet pas leur emploi ; en effet ces traitements anti-tavelures s'ils débutent avant la floraison, doivent être poursuivis à un moment où le fruit se développe, aussi les dangers que pouvaient présenter pour le consommateur les résidus ont-ils prévalu sur leur efficacité.

B - LES ORGANOMERCURIELS DANS L'INDUSTRIE DE LA PULPE DE BOIS ET DU PAPIER

Les organomercuriels ont été largement et sont en partie encore utilisés dans l'industrie de la pulpe de bois et du papier pour leur propriété fongicide.

1°) - Conservation de la pulpe de bois

L'utilisation de fongicides pour la conservation de la pulpe de bois est nécessaire pour éviter les dégâts que peuvent causer les moisissures et les pourritures fongiques. Cette pulpe, est produite en majeure partie par les pays scandinaves et le Canada.

Actuellement l'acétate de phényl-mercure est un des produits indispensables à l'imprégnation d'une telle pulpe, destinée à l'exportation et qui doit être conservée cinq à six mois et plus. Les quantités d'acétate de phényl-mercure utilisées sont de l'ordre de 40 g par tonne (exprimé en poids sec) et il semble difficile de réduire les quantités utilisées si l'on veut avoir une bonne efficacité. On considère que 80-90 % de l'acétate de phényl mercure sont retenus par la pulpe lors du traitement, le reste étant entraîné par les eaux résiduelles. Lors de la transformation de la pulpe en papier, environ 10 à 20 % de produit seront encore entraînés dans les eaux résiduelles ; Si l'on considère que la production de papier est de l'ordre de 30 000 000 tonnes par an d'après ces données, on voit que le degré de pollution des eaux par les organomercuriques peut être très important ; ainsi en Suède, on peut noter que huit usines déchargent 2,5 tonnes d'acétate de phényl mercure par an. De plus le papier est en majeure partie brûlé dans les usines qui traitent les ordures ménagères et une quantité importante de mercure sera rejetée dans l'atmosphère.

Devant ce problème important de pollution et ce problème de conservation de la pulpe non moins conséquent, d'autres solutions ont été recherchées. Il semblerait que le séchage de la pulpe puisse être un moyen

envisageable, mais il nécessitera de la part des importateurs la mise en place d'un équipement nouveau, nécessaire pour traiter cette matière première fournie sous une forme différente.

2°) - Fabrication du papier

Les circuits de canalisation dans lesquels va circuler la pâte à papier offrent de bonnes conditions pour la croissance microbienne : température, humidité, éléments nutritifs. Cette croissance microbienne conduira à l'obstruction des tamis, des filtres et des canalisations.

Les organomercuriels, fongicides, ont été très utilisés pour lutter contre ces phénomènes et l'acétate de phényl-mercure a été le plus communément employé. Mais on s'est rendu compte assez vite que de bonnes opérations de nettoyage des circuits et l'addition de composés moins toxiques, tels les phénols chlorés, certains composés soufrés organiques etc... pouvaient remplacer sans inconvénients les traitements aux organomercuriques et par là même éliminer une autre source de contamination des eaux résiduelles et du papier.

III - TOXICOLOGIE GENERALE DU MERCURE ET DE SES COMPOSES

La connaissance de la toxicologie du mercure et de ses dérivés est d'autant plus nécessaire que ces produits sont des toxiques et qu'ils sont utilisés couramment dans différents domaines. Ainsi les intoxications sont assez fréquentes chez les travailleurs de certaines industries ; elles peuvent résulter aussi d'utilisations thérapeutiques.

Le mercure et ses sels ont été en effet très utilisés en médecine, comme antiseptiques, dans le traitement des affections oculaires, dans le traitement de la syphilis. Le calomel a été longtemps utilisé comme purgatif, chologogue, diurétique, vermifuge.

Plus récemment, quelques composés organiques de mercure ont pris une certaine importance en thérapeutique, soit comme diurétiques, soit comme antiseptiques ; on peut citer le mercure-chlorophénoxy-acétate de sodium véronal connu également sous le nom de novadurool (diurétique) et parmi les antiseptiques, l'hydroxy-mercure-dibromofluoresceine plus connue sous le nom de mercurochrome.

D'autres composés organiques du mercure, sont en raison de leur action fongicide, utilisés en phytopharmacie.

Si l'empoisonnement criminel avec des dérivés minéraux du mercure, n'existe pratiquement plus de nos jours, les empoisonnements accidentels peuvent encore être fréquents.

Il peut arriver que des sels mercuriels, comme le Calomel, à la suite d'une administration simultanée et imprudente d'agents alcalins (bicarbonate de sodium par exemple), se transforment en sels mercuriels considérablement plus toxiques.

L'utilisation dans l'industrie du mercure et de ses dérivés expose plus particulièrement les ouvriers à l'intoxication mercurielle chronique. L'hydrargirisme est d'ailleurs la plus anciennement connue des maladies professionnelles (étude de POPE en 1665). Ces intoxications peuvent s'observer chez les ouvriers qui sont occupés à l'extraction et au traitement des minerais du mercure, à la miroiterie, à la dorure au mercure, à la fabrication des baromètres, des thermomètres et des lampes, la chapellerie, à la fabrication des amorces au fulminate.

En agriculture, les opérations de traitement des semences peuvent dans certains cas, amener la formation de nuages de poussière irritante voire dangereuse, LUNDGREN et SWENSSON (53) ont décrit plusieurs cas d'intoxication avec les composés méthyl-mercure.

Toutes ces observations, ont amené les médecins du travail, les hygiénistes, les ingénieurs de sécurité, à se préoccuper de la prévention de l'hydrargirisme. Parmi les mesures mises en oeuvre, une des plus importantes, se trouve être la surveillance des atmosphères de travail. Il semblerait que les vapeurs de certains organomercuriels soient considérablement plus toxiques que les vapeurs de mercure. Les maximum de concentration tolérables dans les atmosphères industrielles pour des expositions prolongées, seraient de 100 mg de mercure par m³ pour les dérivés minéraux, et dix fois moins fortes pour les organomercuriels c'est-à-dire 10 mg de mercure par m³.

A - SYMPTOMES DE L'ACTION TOXIQUE DU MERCURE ET DE SES COMPOSES

I°) - L'intoxication aiguë

A fortes doses, les composés mercuriels provoquent en général une intoxication aiguë ou subaiguë à symptomatologie digestive et rénale. La symptomatologie est la même pour les composés minéraux et organiques du mercure.

- Les premiers symptômes apparaissent rapidement, ils traduisent l'action locale du poison absorbé par la bouche.

- . Saveur métallique et sensation de brûlure dans la bouche, la gorge, l'oesophage, l'estomac
- . Bientôt surviennent des vomissements (matières sanguinolentes, lambeaux muqueux)
- . Evacuations alvines, souvent sanguinolentes aussi.

- Plus ou moins vite se manifestent de nouveaux symptômes qui traduisent l'action générale du poison qui a pénétré l'organisme.

- . Signes externes : pouls rapide et petit, respiration anxieuse, haleine d'une fétidité spécifique, soif très vive, prostration croissante.
- . Selles très fréquentes, diarrhéiques puis micro-sanglantes, ventre douloureux.
- . Stomatite ulcéreuse, qui résulte sans doute de l'élimination salivaire du mercure. L'intoxiqué peut succomber à un oedème aigu de la glotte produit par l'action caustique du poison.

- . Néphrite (constituant le signe capital de l'intoxication mercurielle aiguë et grave) résultant de l'action du mercure sur le rein (il lèse l'épithélium tubulaire). Douleurs rénales puis urines albumineuses contenant souvent du sang et toujours des cylindres épithéliaux. L'oligurie devient extrême et confine à l'anurie à partir du 2ème jour. Après 5 à 6 jours, l'anurie persistant entraîne une urémie aiguë avec coma hypothermique aboutissant en général à la mort.

Il convient toutefois de noter que l'issue n'est pas fatale dans tous les cas. Elle dépend de la dose absorbée et aussi de la rapidité du traitement. En cas de survie, le sujet reste longtemps pâle et asthénique présentant un amaigrissement marqué.

Il faut noter enfin que la symptomatologie reste la même quelle que soit la voie d'introduction du poison dans l'organisme. S'il n'y a pas ingestion buccale et stomacale, les premiers symptômes décrits font défaut (de même que les phénomènes gastro-intestinaux) ou n'apparaissent que plus tard et sous forme atténuée. La colite dysenteriforme est tout de même présente, ce qui prouve qu'elle résulte bien de l'élimination du poison au niveau de la muqueuse intestinale.

2°) - Les intoxications chroniques

Elles présentent des troubles proches de la forme aiguë mais qui se retrouvent sur un mode atténué. Avec les composés organomercuriels à usages agricoles, les troubles nerveux apparaissent tout d'abord, notamment avec les dérivés alkyl-mercure.

- Les troubles nutritifs apparaissent très tôt, avant même la stomatite. Légers au début (anorexie, diarrhée intermittente), ils deviennent plus graves dans la phase d'intoxication proprement dite (anémie, amaigrissement).

- La stomatite est ici capitale. Sialorrhée fétide avec parfois hypertrophie des glandes salivaires (oreillons du mercure), douleurs gingivales avec liseré mercuriel (plus gris et plus étendu sur les dents latérales que le liseré saturnin). Les dents ont parfois un aspect spécial (grises avec de fines ponctuations).

- Enfin et surtout les troubles nerveux : essentiellement le tremblement mercuriel, limité aux mains, à la mâchoire puis aux membres supérieurs dans les formes légères. Dans les formes graves, le tremblement s'accroît, gagne les membres inférieurs et rend la marche difficile. Dans les cas très graves, le tremblement se généralise au point de ne plus permettre la coordination d'un seul mouvement ; des contractures permanentes ou des crampes douloureuses intermittentes atteignent certains groupes musculaires. On peut voir survenir aussi des troubles nerveux, des paralysies motrices. LUNDGREN et SWENSSON (53) ont décrit plusieurs cas d'empoisonnements chroniques aux composés alkyl-mercure, ils donnent de nombreux traits des troubles nerveux observés.

- Si les troubles rénaux sont beaucoup moins accentués que dans les intoxications aiguës, des altérations sanguines peuvent survenir (anémie modérée avec lymphocytose), accompagnées d'asthénie avec hypotension. L'évolution mercurielle est très lente et n'aboutit que rarement à la cachexie mercurielle qui est devenue très rare.

- Des phénomènes d'irritation sont fréquemment observés : irritations des voies respiratoires, de la peau (dermites) ou des muqueuses, on observe souvent des conjonctivites.

B - LES TRAITEMENTS

Lors des intoxications aiguës, le traitement devra être rapide. Il débutera par l'évacuation du toxique ; elle sera réalisée en pratiquant un lavage d'estomac avec 2 à 3 litres d'eau albumineuse, ou mieux d'eau additionnée d'un des antidotes du mercure choisi parmi les plus actifs ; la rongalite ou formaldéhyde-sulfoxylate de sodium en solution à 10 pour 100.

Si le poison est déjà passé dans la circulation générale, il faudra alors utiliser des antidotes capables d'atteindre le mercure à l'intérieur même des tissus et susceptibles de former avec lui un composé inoffensif, s'éliminant par l'urine.

La rongalite peut être utilisée en injection intraveineuse lente. Mais le B.A.L. ou dimercaptopropanol semble être le plus utilisé et également le plus efficace.

Il est utilisé en injection intramusculaire à raison de 5 mg/kg toutes les 4 heures, le nombre d'injections étant de 4 le 2ème jour et de 2 les 3ème et 4ème jours.

On devra également appliquer un traitement symptomatique et pour l'essentiel combattre la néphrite. L'ouvrage de TRUHAUT (22) "Traitement d'urgence des intoxications" traite de façon précise des moyens à mettre en oeuvre pour lutter contre cette néphrite.

Il sera également indispensable de lutter contre l'acidose par le bicarbonate de sodium et de soutenir le coeur par des tonicardiaques classiques.

Dans l'empoisonnement chronique le traitement consiste en alimentation lactée et bains sulfureux. Le Datura et la Scopolamine peuvent être utilisés pour calmer les tremblements.

C H A P I T R E I I

LES TECHNIQUES DE MICRODOSAGE DU MERCURE

On trouve dans la littérature de très nombreuses méthodes de dosage du mercure. En effet la toxicité du mercure, et les multiples usages de ce composé ont attiré l'attention de nombreux chercheurs. Les travaux ont porté sur la recherche et le dosage du mercure dans les milieux biologiques, les atmosphères de travail, les matières végétales.

Dans leur grande majorité les méthodes d'analyses permettent de doser le mercure sous forme minérale. Etant donné la différence qui peut exister dans la toxicité des différents dérivés du mercure, il a semblé récemment souhaitable d'orienter les recherches vers la détermination de la nature chimique des résidus. Certaines techniques modernes, telles que la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en couches minces, se prêtent à ces déterminations spécifiques.

I - METHODES DE DETERMINATION DU MERCURE SOUS FORME MINERALE

Les techniques proposées comportent en général trois phases :

- Une minéralisation plus ou moins difficile selon le matériel biologique utilisé
- Une concentration du mercure le plus souvent par extraction de ce dernier à l'état de complexe
- Le dosage proprement dit, en général colorimétrique.

A - LA MINERALISATION

Elle sera différente selon le matériel biologique sur lequel on opère. Nous distinguerons les procédés destinés à la minéralisation de l'urine, de ceux destinés à la destruction de la matière organique du sang, des viscères, des végétaux.

1°) - Libération du mercure de l'urine

La minéralisation est généralement rapide, elle a lieu le plus souvent par voie humide à chaud et sous reflux.

On fait agir sur l'urine, soit l'acide sulfurique, soit le mélange sulfonitrique, soit l'acide sulfurique et l'eau oxygénée. Puis intervient le permanganate de potassium qui achève la minéralisation. L'excès de permanganate est détruit par le chlorhydrate d'hydroxylamine.

2°) - Minéralisation du sang et des tissus animaux

L'opération sera beaucoup plus longue, et nécessitera une oxydation plus puissante que pour l'urine. Elle s'effectue toujours par voie humide à chaud. On dissout la matière organique dans l'acide sulfurique concentré par chauffage sous réfrigérant à reflux, puis on ajoute des oxydants tels que l'acide nitrique, le permanganate de potassium, l'eau oxygénée. La minéralisation sous reflux adoptée par de nombreux chimistes, BARNES (5), BARRET (6), CHOLAK et HUBBARD (15), LAUG et NELSON (49), KLEIN (47), SIMONSEN (74), présente l'avantage d'éviter toute perte de mercure, mais a l'inconvénient de maintenir dans le milieu une quantité d'eau assez importante due à l'eau de constitution de la matière organique elle-même d'une part et des réactifs d'autre part, la destruction des lipides s'avère de ce fait très difficile. Certains auteurs tels CHOLAK et HUBBARD (), LAUG et NELSON (49), BARNES (5), BARRET (6), SIMONSEN (74), pour n'en citer que quelques uns, préconisent de les éliminer par filtration après refroidissement du minéralisat. Les autres auteurs, comme PIEN (63) et TRUHAUT (94) préconisent une concentration du minéralisat avec possibilité de soumettre les vapeurs condensées à une nouvelle attaque par réincorporation directe à la masse principale en cours de minéralisation. KLEIN (47) utilise les deux procédés : séparation des lipides et concentration du minéralisat. La minéralisation terminée, l'excès de permanganate de potassium est détruit par le chlorhydrate d'hydroxylamine et les produits nitreux par une solution d'urée.

3°) - Minéralisation des matières végétales

Deux techniques s'offrent à nous ; d'une part la minéralisation par voie humide à chaud, semblable à celle utilisée dans le cas du sang et des tissus animaux, d'autre part une technique plus récente qui est une minéralisation par combustion dans un flacon rempli d'oxygène : c'est la méthode de SCHÖNIGER (73).

a) - Minéralisation par voie humide à chaud

On attaque la matière végétale par un mélange d'acides sulfurique et nitrique ; puis on ajoute de l'eau oxygénée et du permanganate de potassium pour aider à l'oxydation de la matière organique.

KUNZE (48) ajoute du selenium au minéralisat, BEIDAS et HIGGONS (7), SMART (76), ABBOTT et JOHNSON (1) utilisent le procédé de KLEIN (47), c'est-à-dire la concentration du minéralisat sous reflux.

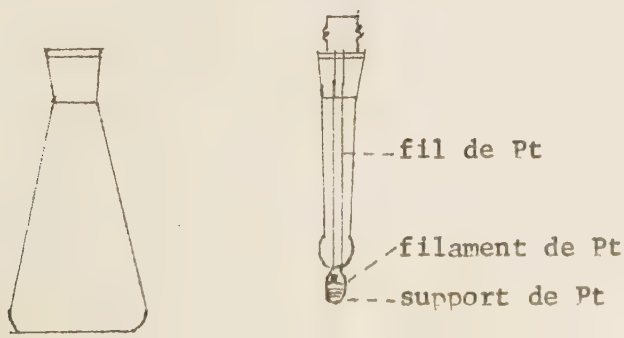
PICKARD et MARTIN (62), utilisent simultanément les techniques de KUNZE (48) et KLEIN (47).

La minéralisation terminée, l'excès de permanganate de potassium est détruit par le chlorhydrate d'hydroxylamine et les produits nitreux par l'urée.

b) - Combustion dans un flacon rempli d'oxygène

La technique de SCHÖNIGER consiste à brûler les échantillons à analyser dans un erlenmeyer rodé, rempli d'oxygène. L'échantillon est placé sur un support en platine et l'inflammation a lieu au moyen d'un filament de platine. Les gaz de combustion sont absorbés dans une solution appropriée contenue dans l'erlenmeyer.

Le schéma de l'appareil est le suivant :



GUTENMAN et LISK (35) ont les premiers utilisé cette technique pour la détermination des résidus de mercure dans les pommes, les pommes de terre, les cerises, les choux etc. Ils pèsent l'échantillon végétal dans un carré de cellophane et le laissent sécher une nuit, puis ils le brûlent. La solution absorbante est de l'acide sulfurique 0,1 N.

BERCK (8), JONES et SCHWARTZMAN (43), PAPPAS et ROSENBERG (61) ont utilisé ce procédé pour la minéralisation du blé. Il est préférable de broyer les échantillons, de bien mélanger, et de faire la combustion sur une quantité voisine du gramme.

Le risque de pertes en mercure est nul pendant la combustion, c'est un avantage de cette technique sur la minéralisation par voie humide à chaud.

Par contre des pertes peuvent se produire lors du séchage des échantillons. Un certain nombre de chercheurs ont recommandé d'effectuer ce séchage à froid. Ces pertes sont pour l'instant un facteur limitant dans l'utilisation de cette technique, technique qui présente encore l'avantage d'être très rapide.

La minéralisation des échantillons terminée, il faudra procéder à l'isolement spécifique du mercure et ensuite au dosage proprement dit.

B - L'ISOLEMENT DU MERCURE ET LES METHODES DE DOSAGE

Nous allons examiner ces deux points ensemble car le plus souvent la méthode de dosage choisie conditionne le mode de séparation du mercure.

1°) - Dosage spectrographique des traces de mercure par la raie d'absorption 2537 Å.

Méthode surtout utilisée pour le dosage du mercure sous forme de vapeur.

Le principe en est le suivant : les atomes de mercure absorbent sélectivement les radiations de 2537 Å. Ces radiations sont obtenues à l'aide d'une lampe à vapeur de mercure fonctionnant à basse pression et munie d'un filtre qui ne permet que le passage des rayons UV de 210 à 330 mμ. Elles sont dirigées à travers un tube dans lequel circule l'air supposé contenir des vapeurs de mercure ; une cellule photoélectrique permet les mesures.

BALLARD et THORNTON (4), ont essayé d'adapter cette technique conçue pour déterminer le mercure sous forme gazeuse, au dosage d'infimes quantités de mercure en solution. Ils ont pu observer qu'en chauffant du sulfure mercurique dans un ensemble clos, le taux d'absorption de la radiation 2537 Å est constant et reproductible pour une quantité donnée de sulfure mercurique.

Il restait donc à déplacer le composé mercuriel présent dans la solution et à le faire passer sous une forme permettant une libération facile du mercure.

Trois procédés s'offrent à nous :

- Fixation du mercure sous forme de sulfure mercurique

BALLARD et THORNTON (4) fixent le mercure présent dans la solution en la faisant passer à travers un disque de fibres d'amiante imprégnées de sulfure de cadmium. Ils ont pu ainsi déterminer 0,02 γ à 0,05 γ de mercure dans 150 à 400 cc de solution.

MONKMAN et MAFFERT(58) fixent le mercure sur un disque de verre fritté également imprégné de sulfure de Cadmium et appliquent ce procédé au dosage du mercure dans les milieux biologiques.

- Fixation du mercure sur une lame de cuivre

BERTON (9) utilise ce procédé pour le dosage du mercure dans l'urine. Il peut déceler 1 γ de mercure à 50 % près et doser de 2 à 20 γ de mercure à 20 % près.

- Formation de dithizonate de mercure

JACOBS , GOLDWATER et GILBERT (41), dans leur technique de dosage du mercure dans le sang, forment du dithizonate de mercure en solution chloroformique. Ils évaporent la chloroforme et libèrent le mercure par chauffage dans une cellule en quartz également.

2°) - Méthodes par activation

Un certain nombre d'éléments ont un ou plusieurs isotopes stables pouvant être activés, c'est à dire rendus radioactifs par un bombardement de neutrons. La réaction nucléaire globale pour l'activation par neutrons est habituellement de type (n, γ) : chacun des noyaux absorbant un des neutrons du bombardement devient instable et libère des rayons γ pour recouvrer sa stabilité.

Les méthodes d'activation ont des applications variées, particulièrement dans la détermination des traces ; pour certains éléments en effet, la sensibilité est telle qu'on peut déterminer des traces de l'ordre de 0,5 à 1 nanogramme/gramme d'échantillon.

Cette méthode d'analyse est une de celles qui ont été assez fréquemment utilisées dans les travaux récents sur la contamination du milieu par le mercure [LJUNGREN et WESTERMARK (52), SJOSTRAND (75), CHRISTELL et Col. (16), SZKOLNIK et Col. (82), SMITH (78), TOMIZAWA (87)].

L'échantillon de l'ordre de 1 gramme est scellé dans un tube de quartz et est irradié pendant 2 à 4 jours dans un flux de neutrons thermiques d'environ 10^{12} neutrons/cm²/seconde.

La radioactivité résultante peut être déterminée directement pour en déduire la concentration du mercure ; mais dans ce cas la limite de sensibilité est de l'ordre de 10-100 nanogramme/gramme. D'autre part, certains éléments présents dans l'échantillon peuvent avoir été activés et venir interférer dans la mesure de la radioactivité.

Aussi un certain nombre de chercheurs, après avoir irradié l'échantillon, procèdent-ils à la séparation du mercure.

La minéralisation de l'échantillon est réalisée par voie humide à chaud, parfois en présence d'un sel de mercure non radioactif qui sert d'entraîneur (SMITH, 78).

La séparation du mercure peut être réalisée :

- Par plusieurs précipitations successives, la précipitation finale permettant d'isoler le mercure sous forme de complexe éthylène-diamine-cuivre-iodure de mercure (SMITH, 78). La sensibilité pouvant alors atteindre 10^{-10} grammes.

- Par distillation, en ajoutant au minéralisat de l'acide perchlorique, et de la glycine. Dans ces conditions il y a formation de chlorure mercurique volatil. Cette distillation est suivie par une électrolyse sur une cathode formée d'une feuille d'or. En effectuant cette séparation après l'activation, la sensibilité peut être augmentée d'un facteur d'au moins 50 et l'on peut atteindre 10^{-5} ppm (SJOSTRAND, 75).

L'utilisation de cette technique demande un laboratoire possédant un certain équipement et la possibilité de faire activer les échantillons dans un réacteur nucléaire.

3°) - Les méthodes colorimétriques

Les méthodes basées sur la formation d'un complexe coloré entre le métal et la dithizone sont actuellement les méthodes les plus générales de séparation et de dosage des traces. On peut utiliser soit la dithizone, soit son homologue, la di- β -naphtyl-thiocarbazone, leur sensibilité peut atteindre 0,1 γ . Les méthodes utilisant des réactifs tels que le diphénylcarbazine ou la diphénylcarbazonne ont été abandonnées.

Ces méthodes nécessitent au préalable l'isolement spécifique du mercure. Un certain nombre de métaux sont susceptibles d'interférer dans le dosage : ils sont en effet extractibles par la dithizone ou son homologue la di- β -naphtyl thiocarbazone dans la gamme de pH où l'on doit se placer pour extraire le dithizonate de mercure. Ces métaux sont le Pd^{++} , l' Ag^+ , le Cu^{++} , l' Au^{+++} , le Pt^{+++} .

a) - L'isolement du mercure

Lorsqu'on effectue les dosages dans les milieux biologiques, seul le cuivre peut se rencontrer à des concentrations susceptibles d'interférer ; cette interférence peut être éliminée selon différentes techniques.

- en jouant sur le pH d'extraction

BARNES (5), IRVING , RISDON et ANDREW (40) constatent qu'en opérant à pH compris entre 1 et 2, et en utilisant la dithizone en solution chloroformique, le taux d'extraction du cuivre devient très faible.

- par addition de chélateur

FRIEDEBERG (26) recommande lorsqu'on se trouve en présence de grandes quantités de cuivre, d'extraire le mercure en présence d'acide éthylène-diamine-tétraacétique (EDTA). TRUHAUT et BOUDENE (21) dans le cas de l'urine, font de même en se plaçant à pH 1,5.

- par extraction sous forme de complexe

BARRET (6), OLIVER et FUNNEL (60) CAFRUNY (13) utilisent le thiosulfate pour détruire le dithizonate de mercure. Le complexe thio-sulfate-mercure est ensuite détruit par de l'hypochlorite qui oxyde en même temps l'excès de thiosulfate. On procède ensuite au dosage par la dithizone.

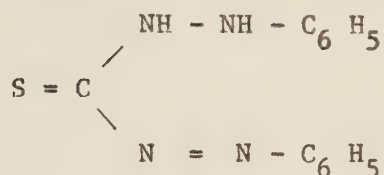
BEIDAS et HIGGONS (7) quant à eux, détruisent le dithizonate de mercure par une solution d'acide sulfurique en présence de permanganate de potassium ; puis après réduction du permanganate, ils effectuent le titrage au moyen de la dithizone par comparaison avec une solution titrée de chlorure mercurique.

TRUHAUT et BOUDENE (94) (sang et tissus animaux) procèdent comme BEIDAS et HIGGONS (7) pour détruire le complexe, puis effectuent un entraînement du mercure par la vapeur d'eau, ce qui évite de fixer des conditions rigoureuses de pH ou l'addition de complexon lors du dosage.

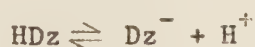
b) - Le dosage proprement dit

α - Les méthodes à la dithizone

La dithizone ou diphényl-thiocarbazone a la formule suivante :

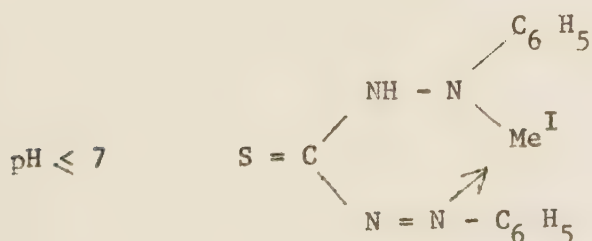


Elle est soluble dans les solvants organiques tels que le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, en donnant des solutions vertes. A $\text{pH} \leq 7$, elle est très peu soluble dans l'eau ; à $\text{pH} \geq 7$, la solubilité apparente croît, par suite de la formation d'anions :

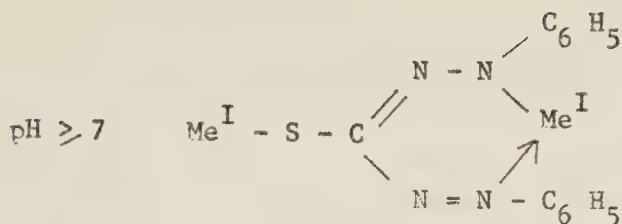


Avec de nombreux ions métalliques, il se forme des dithizonates colorés, peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques (tétrachlorure de carbone, chloroforme).

Selon le pH du milieu, ils sont soit sous la forme cétonique, soit sous la forme énolique.



Forme cétonique



Forme énolique
souvent peu soluble
dans C Cl_4 et C HCl_3

Avec les ions mercuriques, on peut obtenir ces deux formes de complexes : en pH $<$ 7, la forme cétonique est colorée en jaune orangé, en pH $\geq$ 7, la forme énolique est colorée en rouge violacé.

En jouant sur le pH d'extraction, on peut donc arriver à une certaine sélectivité du métal à doser par rapport aux autres métaux présents dans le milieu.

1) - Colorimétrie du dithizonate. - La longueur d'onde du maximum d'absorption du dithizonate de mercure est de 530 mμ (SANDELL)

- en présence de l'excès de dithizone

La dithizone étant elle-même colorée, il faut effectuer la colorimétrie à une longueur d'onde choisie pour que l'absorption de la dithizone soit aussi faible que possible et celle du dithizonate aussi forte que possible. Il est assez difficile d'obtenir, en opérant de cette façon, un résultat satisfaisant.

- après séparation de la dithizone en excès

On extrait le dithizonate de mercure en une seule fois avec un excès de dithizone en se plaçant dans les conditions les plus favorables. On élimine l'excès de dithizone présent dans la solution chloroformique par agitation avec une solution d'ammoniaque 0,2 N, ou de soude diluée. Dans ces conditions, la dithizone libre passe en solution aqueuse. On détermine soit la densité optique du dithizonate à 530 mμ, soit, on le dose par comparaison avec une série d'étalons préparés dans les mêmes conditions. Cette technique ne peut convenir que si le dithizonate est stable dans ces conditions.

2) - Colorimétrie de la dithizone :

- en présence du dithizonate

On se place à une longueur d'onde à laquelle le dithizonate n'absorbe pas. La dithizone absorbe à 620 mμ. En connaissant la concentration exacte du réactif, et la quantité totale de dithizone, on peut en déduire la concentration du dithizonate.

- après décomposition du dithizonate

La méthode consiste à déterminer d'abord la densité optique du mélange dithizone - dithizonate à 620 mμ. Puis on décompose le dithizonate IRVING , RISDON et ANDREW (40), ARTHINGTON et HULME (3) utilisent une solution acide d'iodure de potassium : le mercure passe dans la phase aqueuse sous forme d'iodomercurate de potassium, la dithizone reste en solution chloroformique et est dosée.

3) - Méthode de la teinte sensible. - Cette méthode utilisée en colorimétrie visuelle est assez précise.

- en présence du dithizonate

On extrait l'ion mercurique (ROTH,⁷¹) par une solution chloroformique de dithizone. Lorsqu'on arrive au terme de l'extraction, la teinte de la couche chloroformique passe du jaune orangé au gris verdâtre. Cette teinte est due au mélange dithizone - dithizonate. Un volume de dithizone égal à celui utilisé pour l'extraction du mercure est titré par une solution étalon de mercure jusqu'à obtention de la même teinte gris verdâtre.

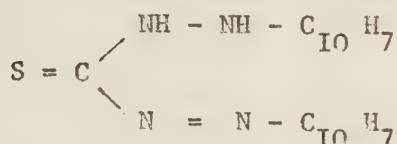
- titrage après extractions fractionnées

Cette technique consiste à extraire l'ion mercurique au moyen de petites fractions d'une solution chloroformique de dithizone dont le volume est exactement mesuré. Tant que l'extraction n'est pas terminée, les extraits chloroformiques sont orangés. Lorsque la terme de l'extraction arrive, on obtient une teinte grise due au mélange dithizone - dithizonate. La solution de dithizone utilisée est étalonnée en opérant

de même avec une solution titrée d'ion mercurique. La méthode est précise si le volume de solution employé au moment du virage est faible.

β -- Les méthodes à la di-β-naphtyl-thio carbazone

Ce composé a été synthétisé par PPEUND (64) et par SUPRUNOVICH (80). Sa formule est la suivante :



Il se comporte comme la dithizone avec les métaux lourds. Il possède les mêmes caractéristiques que la dithizone. HUBBARD (39) propose de l'utiliser dans le dosage du mercure à la place de la dithizone car le complexe formé est plus stable : on n'observe aucun changement de coloration par exposition d'au moins une heure à une lumière artificielle forte. Cependant le complexe ne supporte pas d'exposition directe aux rayons solaires.

Le complexe obtenu est coloré en rose et possède un maximum d'absorption à 515 mμ. Cette coloration est facile à percevoir visuellement et peut permettre un dosage comparatif à l'oeil.

HUBBARD (39), puis HUBBARD et CHOLAK (15), LEACH, EVANS et CRIMMIN (50) enfin FABRE, TRUHAUT et BOUDENE (20, 21) utilisent ce réactif pour le dosage du mercure dans le matériel biologique.

Rappelons que les techniques à la di-β-naphtyl-thio-carbazone sont conduites de la même manière que les méthodes à la dithizone. On pourra donc procéder par colorimétrie du complexe formé, ou de la di-β-naphtyl-thio-carbazone, ou par la méthode de la teinte sensible.

II - METHODES DE DETERMINATION DU COMPOSE ORGANO-MERCURIEL

Jusqu'à une date récente, on avait peu de données sur la nature chimique des résidus de mercure et l'on ne disposait pas de méthodes spécifiques pour les étudier.

GAGE (23) essayant d'aborder ce problème, avait bien réalisé l'extraction sélective des composés organo-mercuriels, puis il procédait à une minéralisation et au dosage du mercure par colorimétrie. Cette méthode ne permettait pas par conséquent la différenciation des organo-mercuriels.

Faisant appel aux acquisitions plus récentes de la chromatographie en phase gazeuse et de la chromatographie en couches minces, WESTOO (102), KITAMURA (46), TERAMOTO et Col. (84), SUMINO (79) et plus récemment encore TATTON et WAGSTAFFE (83) s'attachèrent à appliquer ces techniques à la détermination des traces d'organomercuriels.

La mise au point de ces techniques n'a pas été sans soulever un certain nombre de problèmes : l'extraction du composé mercuriel n'est pas simple. Rappelons que la formule générale des organomercuriels est $R-Hg-X$, et la nature de X va influencer les propriétés chimiques du composé. Ainsi lorsque X est un sulfate, un nitrate ou acétate, le composé tend à être ionisé et soluble dans l'eau. Lorsque X est un halogène ou la dicyandiamide, le composé tend à être apolaire et soluble dans les solvants organiques. De plus l'extraction doit être réalisée sans en altérer la nature chimique.

Les chromatographies en couches minces et en phase gazeuse ont dû être l'objet de nombreuses mises au point afin d'obtenir une bonne séparation de ces composés, liée à une sensibilité satisfaisante.

A - TECHNIQUES D'EXTRACTION

Les méthodes proposées jusqu'ici sont les suivantes :

I°) - Extraction des composés phényl et méthyl-mercuriques

a) - La méthode de GAGE. - Elle consiste à extraire par le benzène les composés mercuriels présents dans les milieux biologiques ; l'échantillon ayant été au préalable broyé en présence d'eau et d'acide chlorhydrique (ce dernier permettant la formation de chlorures organomercuriques). Le composé mercuriel présent dans l'extraît benzénique est extrait par une solution aqueuse de sulfure de sodium, extraction suivie par la minéralisation et le dosage colorimétrique.

b) - Les techniques de WESTOO. - La technique d'extraction de GAGE (23) fut reprise par WESTOO (102) pour la détermination des résidus de méthyl-mercure dans les poissons. Il pratiqua la purification de l'extractum benzénique par extraction par une solution aqueuse ammoniacale (saturée en sulfate de sodium) conduisant à la formation d'hydroxyde ou de sulfate de méthyl-mercure solubles dans l'eau ; Cette extraction étant suivie par une acidification et une dernière extraction par le benzène.

Lorsque WESTOO (102) voulut appliquer la technique précédente à l'extraction des produits alimentaires d'origine animale en général (oeuf, viande, foie), cette technique se révéla fort peu satisfaisante, la récupération des organomercuriels étant médiocre. La présence de composés soufrés entraînés lors de l'extraction par le benzène fut alors incriminée. Pour éliminer cette interférence des groupements soufrés avec les composés méthylmercure il proposa alors deux modifications à la technique précédente.

- Adjonction d'une solution de chlorure mercurique

Elle est ajoutée au premier extractum benzénique. Les ions mercuriques vont libérer les composés méthyl-mercure de leur combinaison avec les thiols et prendre leur place. On pourra ensuite procéder à la purification par la solution alcaline.

- Adjonction d'une solution aqueuse de cystéine à l'extrait benzénique

La solution aqueuse est séparée, elle renferme les composés organomercuriels ; elle est ensuite acidifiée par l'acide chlorhydrique et ré-extraite par le benzène.

2°) - Méthode générale d'extraction des organomercuriels

Plus récemment, TATTON et WAGSTAFFE (83) voulant mettre au point une méthode d'extraction applicable aux composés organomercuriels en général ont constaté que l'extraction en milieu acide ne convenait pas aux composés alcoxy-alcoyle de mercure qui sont instables dans les acides même dilués.

Ils proposèrent alors d'extraire les organomercuriels en utilisant une solution légèrement alcaline de chlorhydrate de cystéine dans le 2-propanol. L'extrait, dilué par une solution aqueuse de sulfate de soude, est lavé par l'éther éthylique ou le toluène et les organomercuriels extraits par une solution de dithizone dans l'éther éthylique.

B - SEPARATION ET DOSAGE

I°) - La chromatographie en couches minces

La séparation de ces composés mercuriels sur plaques est assez complexe. Nous avons précédemment noté que certains d'entre eux ont tendance à être ionisés et solubles dans l'eau, alors que d'autres sont apolaires et solubles dans les solvants organiques. L'importance toxicologique du résidu organomercuriel n'étant pas liée à la nature de X, mais bien plus à la nature du groupement R-Hg, WESTOO (102), puis TATTON et WAGSTAFFE (83) utilisèrent un procédé qui consistait à transformer les composés organomercuriels :

- en chlorures ou bromures (WESTOO, 102) et à révéler le chlore ou le brome en pulvérisant une solution éthanolique de thiocétone (MICHLER).

- en dithizonates organomercuriels (WESTOO (102), TATTON et WAGSTAFFE (83)) par simple agitation avec une solution chloroformique de dithizone. Les complexes formés sont colorés, il ne sera pas utile de ré-

Les mélanges éluants varient selon les auteurs :

Dans une étude limitée aux trois composés suivants : dithizonate de mercure, dithizonate de méthyl-mercure et dithizonate de phényl-mercure WESTOO (102) utilise du gel d'alumine pour les dithizonates (limite de sensibilité 0,2 γ) et du gel de silice pour les chlorures ou bromures de méthylmercure (limite de sensibilité 0,02 γ). Le mélange éluant utilisé était le suivant :

Ether de pétrole	70 vol.
Ether éthylique	30 vol.

TATTON et WAGSTAFFE (83) ont réalisé une étude plus complète avec les gels de silice et d'alumine, leur limite de sensibilité est de l'ordre de 2 γ .

Le tableau suivant précise les Rf, mélanges éluants et nature du support.

TABLEAU II

Rf des dithizonates organomercuriques

d'après TATTON et WAGSTAFFE

Dithizonate	Système					
	I	2	3	4	5	6
Méthyl-mercure	64	48	57	77	89	86
Ethyl-mercure	64	51	62	78	91	87
Méthoxy-éthyl-mercure	32	16	25	44	58	49
Ethoxy-éthyl-mercure	44	23	34	55	71	67
Phényl-mercure	48	34	46	62	72	69
Tolyl-mercure	52	40	53	69	79	76
Di-dithizonate de mercure	19	9	17	28	19	15

Système :	(1)	Gel de silice	Hexane-acétone	(9 : 1)
	(2)	Gel de silice	Hexane-acétone	(19 : 1)
	(3)	Gel de silice	Hexane-acétone	(93 : 1)
	(4)	Gel de silice	Ether de pétrole-acétone	(9 : 1)
	(5)	Gel d'alumine	Hexane-acétone	(19 : 1)
	(6)	Gel d'alumine	Ether de pétrole-acétone	(10 : 1)

Epaisseur des plaques : 250 μ

2°) - La chromatographie en phase gazeuse

Les chlorure, bromure, iodure, cyanure et dithizonate organo-mercuriques peuvent être décelés par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons.

Les phases stationnaires utilisées sont en général polaires :

WESTOO (102) utilise la Carbowax I500 ou 20 M à 10 % sur téflon 6 ou sur chromosorb G ou W.

TERAMOTO (34) utilise le succinate de diéthylène-glycol à 25 %.

TATTON et WAGSTAFFE (33) constatent que le type de colonne le plus satisfaisant est à base de succinate de polyéthylène-glycol sur chromosorb G : (Tableau II).

On constate des différences dans les temps de rétention notés par WESTOO (102) et par TATTON et WAGSTAFFE (33), pour les dérivés alcoxy-alcoyles. Les temps de rétention ainsi que la forme des pics dépendent des conditions choisies : les dérivés d'aryle-mercure ont des temps de rétention relativement longs et des pics relativement larges à la base et bien souvent asymétriques.

Cette asymétrie a été observée sur différentes phases stationnaires : Apiezon L., Silicone GE SE 32, Cyanosilicone GE XE 60, Carbowax I500 et les succinates d'éthylène et de diéthylène-glycol quel que soit le support.

TATTON et WAGSTAFFE (83) ont observé que l'injection en direct dans la colonne tend à minimiser cet effet et l'utilisation du succinate de polyéthylène-glycol à 1 % leur a permis d'obtenir des temps de rétention moins importants et des pics assez étroits.

TABLEAU III

Temps de rétention des dithizonates organomercuriques
(d'après TATTON et WAGSTAFFE)

Dithizonate	Température de la colonne (°C)				
	140	150	160	170	180
<i>1°) - 2% succinate de polyéthylène glycol sur chromosorb G (AW-DMCS 60-80 mesh)</i>					
Méthyl-mercure	3,8	2,8	2,2	1,6	1,2
Ethyl-mercure	6,6	4,6	3,6	2,7	2,0
Ethoxy-éthyl-mercure	17,0	11,6	8,7	6,2	4,9
Méthoxy-éthyl-mercure	17,4	12,0	8,7	6,2	4,9
Tolyl-mercure	-	-	-	29,0	19,5
Phényl-mercure	-	-	-	42,0	27,0
<i>2°) - 1% succinate de polyéthylène glycol sur chromosorb G (AW-DMCS 60-80 mesh)</i>					
Tolyl-mercure				6,4	3,2
Phényl-mercure				10,0	5,0

Les organomercuriels sont des poisons pour les feuilles tritiées du détecteur à capture d'électrons.

Le moindre dépôt sur les sources de tritium diminue l'émission des rayons β . L'effet est très marqué, avec les mercuriels, qui forment un dépôt à potentiel de capture d'électrons élevé et l'émission des rayons β peut tomber très rapidement à zéro.

Certains chercheurs, et notamment WESTOO (102), préconisent de travailler à des températures de l'ordre de 130 à 150°. A ces températures cet effet devient négligeable, mais les temps de rétention sont alors assez importants.

TATTON et WAGSTAFFE (83) pensent quant à eux que l'on peut travailler à des températures de colonnes voisines de 180° ; ils préconisent alors de limiter la quantité de mercure injectée à des teneurs de 100 nanogrammes.

L'étude de ces techniques nouvelles mérite d'être poursuivie ; elles permettront de disposer de nouveaux éléments complémentaires dans la détermination de mercure.

III - TECHNIQUE DE MICRO-DOSAGE UTILISEE DANS NOTRE ETUDE

Pour des raisons d'ordre pratique nous étions amenée à choisir une méthode colorimétrique. En effet ces méthodes sont d'un usage courant au laboratoire et présentent en général les qualités de sensibilité et précision indispensables à la réalisation du travail que nous avons entrepris.

Parmi les méthodes précédemment décrites, nous avons choisi les méthodes d'analyses de TRUHAUT et BOUDENE (20, 21, 94, 95, 96) techniques éprouvées et couramment utilisées au Laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de PARIS.

A - PRINCIPE

Ces méthodes comprennent les trois stades suivants :

- 1er stade. - Destruction sulfo-nitro-perhydro-permanganique sous reflux de la matière organique avec concentration du minéralisat.
- 2ème stade. - Extraction sous forme de complexe du mercure par la di- β naphtyl-thiocarbazone, destruction du complexe et précipitation du mercure en milieu sulfurique par le sulfate stanneux suivi d'un isolement spécifique par entraînement à la vapeur d'eau et captation dans une liqueur sulfopermanganique.

3ème stade. - Dosage titrimétrique du mercure par la di- β -naphtyl-thiocarbazone.

B - REACTIFS

- Acide sulfurique d = 1,84 " pur pour toxicologie"
- Perhydrol pur
- Acide nitrique pur qualité pour toxicologie
- Permanganate :
 - en cristaux
 - en solution saturée dans l'eau bidistillée
 - en solution normale dans l'eau bidistillée
- Chlorhydrate d'hydroxylamine en solution saturée dans l'eau bidistillée
- Acétate de sodium en solution à 50 % en poids dans l'eau bidistillée
- Solution d'urée à 10 % en poids dans l'eau bidistillée
- Solution de complexon III (sel disodique de l'acide éthylènediamino-tétraacétique) à 2,5 g dans 100 ml d'eau bidistillée
- Di- β -naphtylthiocarbazone
 - solution mère à 0,1 g dans 100 ml de tétrachlorure de carbone pur (à garder au frigidaire et à l'obscurité)
 - solution fille par dilution de la solution précédente à 1/40° dans le chloroforme
- Ether de pétrole purifié
- Sulfate stanneux en suspension à 10 % dans l'eau bidistillée acidifiée par 1 ml d'acide sulfurique : agiter énergiquement à plusieurs heures d'intervalle et utiliser la solution obtenue après décantation de la fraction insoluble
- Solution étalon de mercure à 50 $\mu\text{g}/\text{cc}$ de mercure métal, obtenue en dissolvant 67,7 mg de bichlorure de mercure dans un litre d'acide chlorhydrique à 5 %.

Préparer extemporanément une solution faible par dilution à 1/50° de la précédente dans l'eau bidistillée (1 ml de cette solution correspond à 1 μg de mercure métal).
- Papier pH indicateur à 1/2 unités (zone 0-5)

C - MINERALISATION

1°) - Minéralisation de l'urine

Mesurer avec précision 10 ml d'urine préalablement bien agitée et les verser dans un microkjeldahl rodé de forme excentrée contenant une bille de verre. Adapter à ce dernier un réfrigérant à embout également rodé (fig. I) et fixer l'ensemble en position verticale au-dessus d'un micro-brûleur. Ajouter par l'extrémité supérieure 1 ml d'acide sulfurique, laisser bouillir pendant quelques minutes, verser avec précaution la solution saturée de permanganate jusqu'à persistance d'une coloration brunâtre indiquant la présence d'un excès. Noter le volume utilisé. Laisser bouillir pendant environ 20 minutes puis refroidir.

Verser par le réfrigérant 1 ml de solution saturée de chlorhydrate d'hydroxylamine et quelques ml d'eau distillée. Porter rapidement à ébullition et ajouter une quantité suffisante d'eau distillée pour rincer le réfrigérant. Amener par addition d'eau le contenu du microkjeldahl aux trois-quarts de son volume. Refroidir. La décoloration du minéralisat doit être totale.

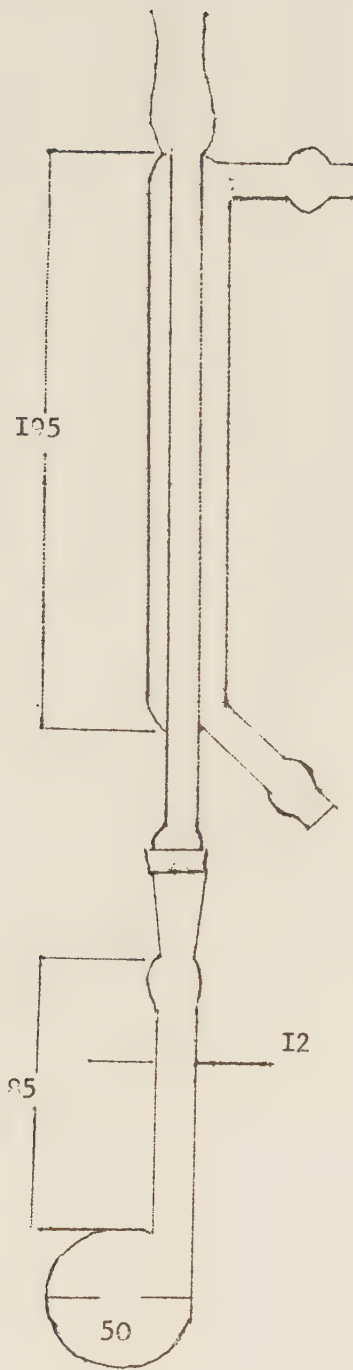
2°) - Minéralisation du sang, des tissus animaux, des matières végétales

- Premier stade de la minéralisation

a' - Cas du sang et des tissus animaux

10 à 20 g de sang ou 2 à 5 g d'organes sont exactement pesés et introduits dans le ballon à col courbe de l'appareil représenté dans la figure II.

Après addition de 5 ml d'acide sulfurique pur et mise en place du réfrigérant en position I, l'ensemble est soumis à un chauffage doux jusqu'à dissolution complète des protéines. Par l'extrémité du réfrigérant on introduit alors avec précaution du perhydrol par petites fractions de 1 ml en poursuivant le chauffage jusqu'à décoloration presque complète.



FIGUPE N° I

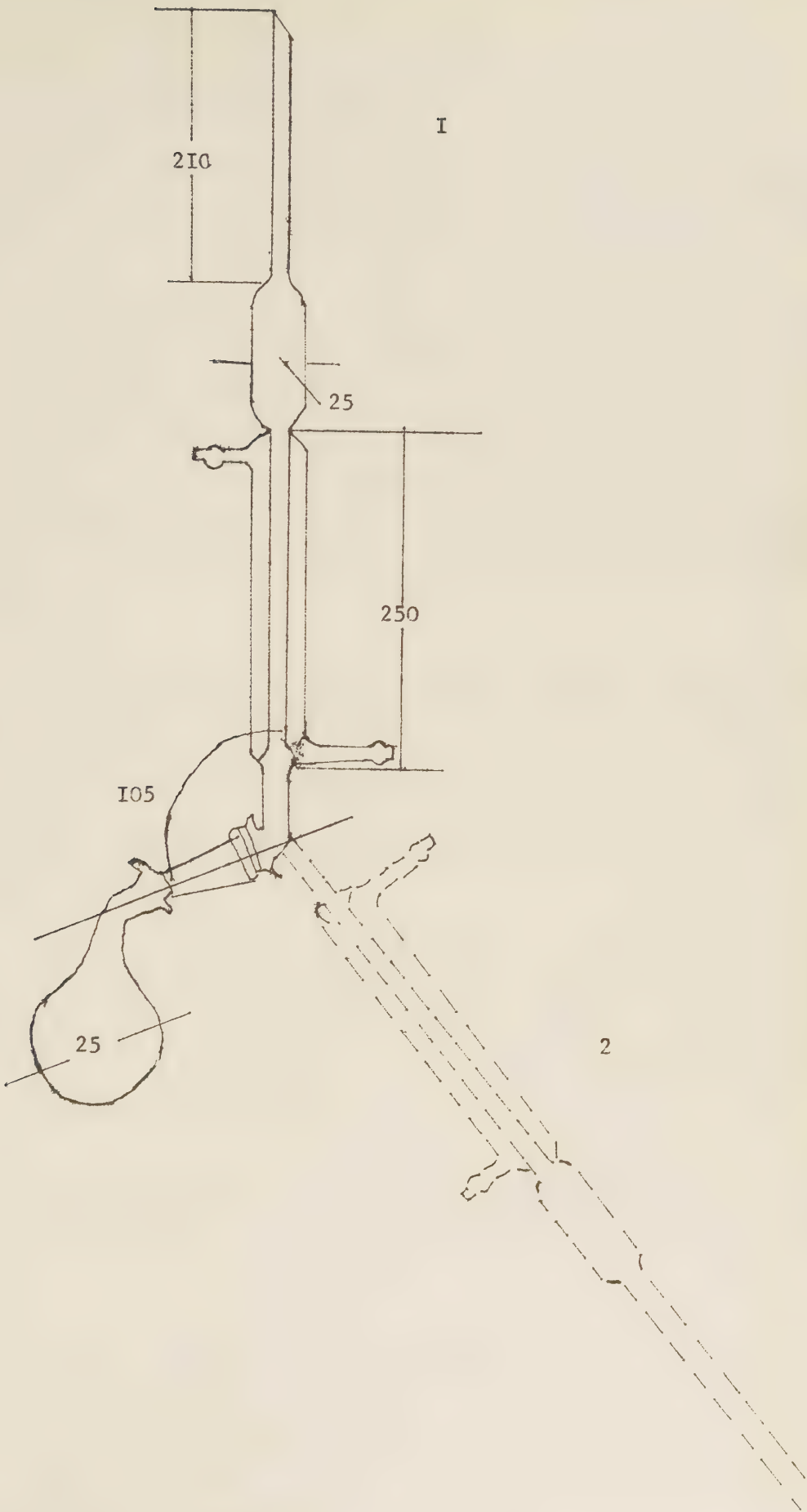


FIGURE N° 2

b) - Cas des matières végétales

5 g de matière végétale sèche (graines, bulbes, tubercules) ou 25 grammes de végétaux verts (feuilles) sont pesés et introduits dans le ballon à col courbe de l'appareil représenté sur la fig. II.

Après addition de 5 ml de HNO_3 pur et mise en place du réfrigérant dans la position I, on chauffe doucement pendant 10 minutes environ jusqu'à liquéfaction partielle de la matière organique. On laisse refroidir et on introduit avec précaution par l'extrémité supérieure du réfrigérant 5 ml de H_2SO_4 . On chauffe à nouveau 10 à 30 minutes. Puis on ajoute de l'acide nitrique par fractions de 1 ml en laissant un peu refroidir le ballon avant chaque addition, jusqu'à complète dissolution de la matière organique.

Quand on a obtenu un liquide presque limpide ou ajoute H_2O_2 avec précaution, par fractions de 2 ml, et en poursuivant toujours le chauffage jusqu'à décoloration totale de la solution.

- Deuxième stade de la minéralisation (commun aux tissus animaux et végétaux)

On dispose alors le réfrigérant dans la position 2 et on procède à une distillation du contenu du ballon en recueillant le distillat dans 10 ml d'un mélange à volume égal de sol. saturée de KMnO_4 et de sol. aqueuse à 10 % en poids de H_2SO_4 contenu dans une ampoule à décantation dans laquelle est immergée l'extrémité du réfrigérant.

Dès qu'apparaissent les fumées blanches de SO_3 , on arrête le chauffage et, après refroidissement, on redresse le réfrigérant dans la position I.

On ajoute alors 2 ml de HNO_3 , on chauffe 30' et on ajoute à nouveau, si besoin, HNO_3 par fractions de 1 ml jusqu'à obtention d'une solution à peine jaunâtre. On laisse refroidir le ballon et on y introduit ensuite le contenu de l'ampoule à décanter. On ajoute également 1 g de KMnO_4 en cristaux et on chauffe sous reflux 30' en ayant soin de maintenir tou-

jours un excès de persel par addition éventuelle, goutte à goutte, d'une solution aqueuse saturée de KMnO_4 .

Au liquide refroidi est finalement ajoutée de la solution saturée de chlorhydrate d'hydroxylamine en quantité suffisante pour une décoloration complète. Après ébullition sous reflux, le contenu du ballon est introduit dans l'ampoule à décanter et mélangé par agitation à 4 ml d'une solution aqueuse d'urée à 10 % en poids. On rince l'appareillage avec 20 ml d'eau bidistillée employée en trois fois et on ajuste le pH entre 1 et 2 par addition ménagée de la solution aqueuse d'acétate de sodium à 50 % (en poids).

D - SEPARATION DU MERCURE

1°) - Cas de l'urine

On élimine les interférences par addition au minéralisat refroidi de :

- 2 ml de solution d'urée à 10 %
- 1 ml de solution de complexon III à 2,5 %
- une quantité suffisante de la solution d'acétate de sodium pour obtenir un pH entre 1,5 et 2 (le pH étant vérifié au papier indicateur)

Le dosage titrimétrique sera réalisé sans autre préparation.

2°) - Cas du sang, des tissus animaux, des matières végétales

Extraire le mercure du minéralisat par addition de la solution diluée de di- β -naphtylthiocarbazone. Employer successivement deux, trois et, si nécessaire, plusieurs fois 1 ml de ce réactif jusqu'à ce qu'il ne change plus de couleur après agitation avec le liquide de minéralisation. Rincer ensuite une dernière fois avec du chloroforme pur. Les "extractum" chloroformiques sont décantés et réunis au fur et à mesure dans une petite éprouvette. Le contenu est porté dans l'ampoule après élimination de la solution aqueuse. Ajouter alors 4 ml d'une solution aqueuse d'acide sulfurique à 15 % en poids et 2 gouttes de solution saturée de permanganate de

potassium. Bien agiter et vérifier que la couche chloroformique est devenue complètement jaune, ce qui traduit la décomposition totale du complexe mercuriel et le passage quantitatif du mercure en solution sulfurique. Décanter la couche chloroformique et en éliminer les dernières traces par lavage avec 5 ml d'éther de pétrole. Recueillir la solution sulfurique dans le ballon à col courbe. Laver l'éther de pétrole avec 2 ml d'acide sulfurique à 15 % additionnée d'une goutte de solution de permanganate. Ajouter enfin 1 ml de solution saturée de permanganate et chauffer 30 mn sous reflux. Laisser un peu refroidir et introduire 3,5 ml d'acide sulfurique pur par l'extrémité supérieure du réfrigérant. Chauffer à nouveau 15 minutes en vérifiant qu'il subsiste toujours un excès de permanganate. Laisser refroidir. Verser le contenu du ballon dans la partie "B" de l'appareil à entraînement à la vapeur d'eau (fig. 3).

Rincer le réfrigérant et le ballon avec environ 10 ml d'eau bidistillée employée en plusieurs fois et ajouter 5 ml de solution aqueuse de sulfate stanneux. Monter alors les différentes parties rodées de l'appareil comme l'indique le schéma et réunir solidement "b" et "A" par l'intermédiaire de ressorts s'appuyant sur des ergots appropriés. Chauffer doucement et à l'abri des courants d'air le ballon "A" préalablement rempli de la moitié d'eau et attendre pour réunir le tube de plastique "a" entre "A" et "b" qu'un jet de vapeur continu s'échappe de "A".

Distiller par l'intermédiaire du réfrigérant à air "C" dans un microkjeldahl rodé de forme excentrée "D" immergé dans un cristallinir plein d'eau et contenant 5 ml d'une solution aqueuse renfermant en volume 10 % de permanganate N et 10 % d'acide sulfurique pur. Poursuivre lentement la distillation jusqu'à obtention d'un volume de distillat représentant les 4/5 de celui du microkjeldahl.

E - DOSAGE TITRIMETRIQUE

1°) - Cas de l'urine

Préparer un témoin et y ajouter tous les réactifs utilisés depuis le stade minéralisation en quantités équivalentes à celles utilisées pour l'échantillon à doser.

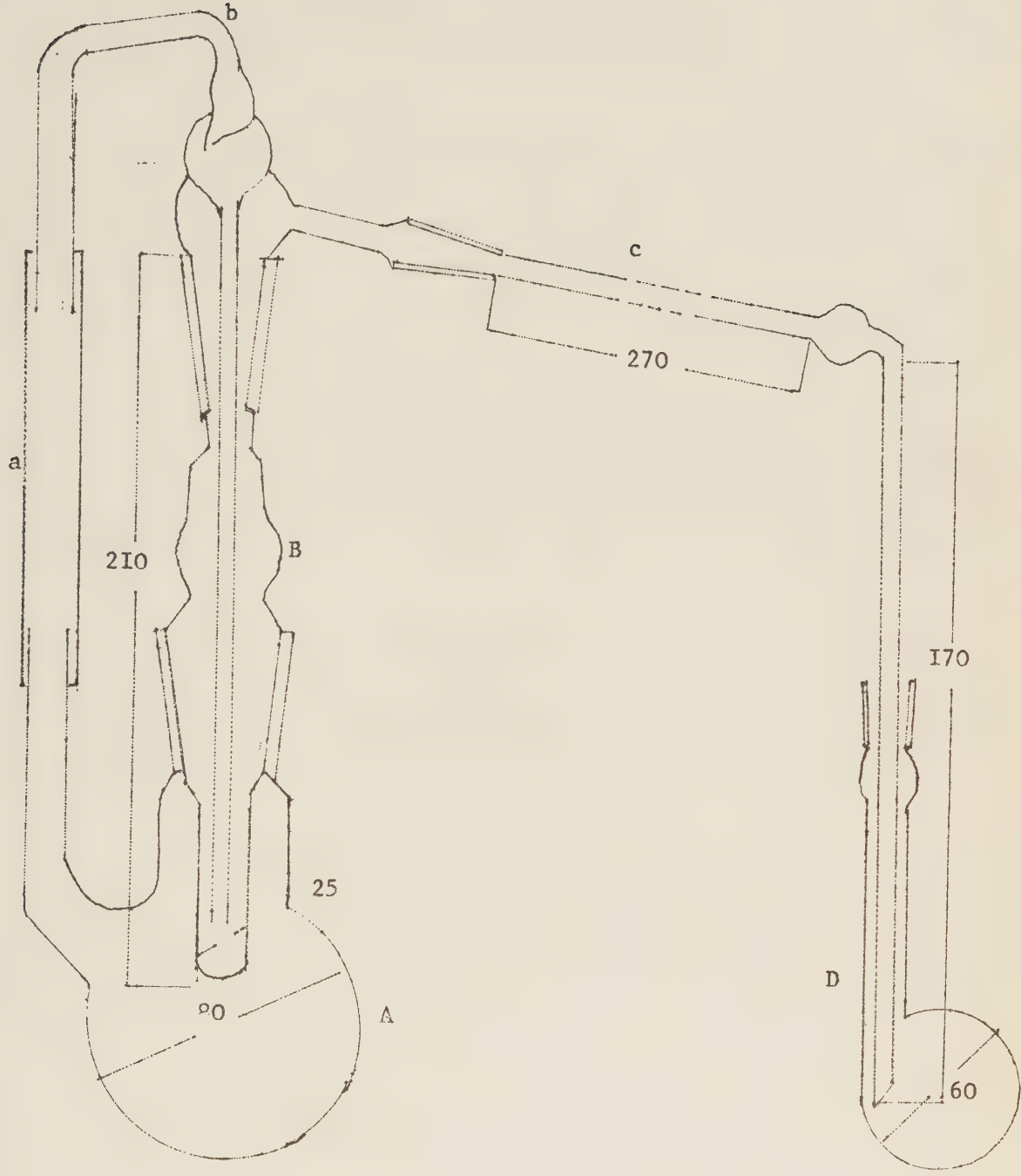


FIGURE N° 3

Ajouter alors dans la fiole contenant l'urine, la solution faible de di- β -naphtyl-thiocarbazone par fractions de 0,5 ml.

Bien agiter entre chaque addition et apprécier après décantation la coloration de la couche chloroformique. Amener la teinte à une coloration intermédiaire entre le rose du complexe et le bleu-vert de la di- β -naphtyl-thiocarbazone libre. Noter soigneusement le volume, ajouter le même volume dans l'autre microkjeldahl dont la couche chloroformique doit être bleue.

Ramener la teinte de cette dernière à celle choisie précédemment par additions successives de solution titrée de mercure. Agiter et comparer les teintes des deux couches chloroformiques des deux microkjeldahl (fig. 4).

Après obtention de la coloration, lire le nombre de divisions sur la burette (une division correspond à 1/100 de ml de solution étalon de mercure). Ce nombre indique la concentration de mercure en μg par litre d'urine.

Cette technique simple et rapide permet de doser le mercure dans un échantillon de 10 ml d'urine ; dans le cas d'intoxications graves, cette prise d'essai peut être réduite à 5 ml d'urine. On obtient alors une précision de l'ordre de 5 pour cent pour des concentrations comprises entre 0 et 400 μg de mercure par litre.

2°) - Cas du sang, des tissus animaux et végétaux

Ajouter dans le microkjeldahl contenant le distillat 1 ml de solution saturée de chlorhydrate d'hydroxylamine, ce qui doit, après agitation, entraîner une décoloration totale.

Prendre un microkjeldahl témoin et y verser 5 ml de la solution sufopermanganique contenant 10 % de permanganate N et 10 % d'acide sulfurique pur, diluer à un volume sensiblement égal à celui du distillat contenu dans l'autre fiole et décolorer par addition de la même quantité d'hydroxylamine.

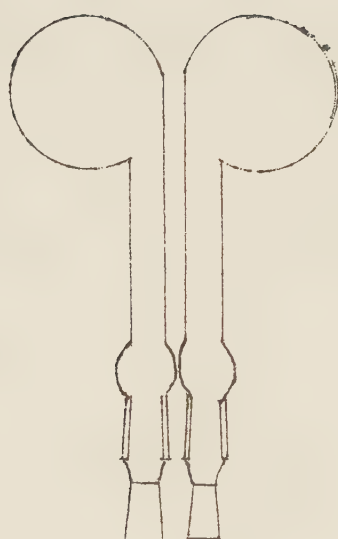


FIGURE N° 4

Ajouter alors dans le microkjeldahl contenant le distillat, par fraction de 0,5 ml, la solution chloroformique diluée de di- β -naphtylthiocarbazone. Bien agiter après chaque addition et observer la teinte de la couche chloroformique par décantation dans la partie cylindrique. Continuer l'addition jusqu'à obtention d'une teinte lilas-mauve. Noter soigneusement le volume ajouté.

Prendre alors le microkjeldahl témoin et y ajouter le même volume de solution chloroformique. Ramener la teinte bleu-vert de la phase solvant à celle du premier microkjeldahl par addition, goutte à goutte, et en agitant, de la solution diluée étalon de mercure. Connaissant le volume ajouté, il est facile de calculer la quantité de mercure présente dans l'échantillon analysé.

F - DISCUSSION

I°) - La minéralisation

Nous avons vu précédemment que lors de la minéralisation par voie humide à chaud, la volatilité du mercure et de ses sels peut conduire à des pertes. La plupart des minéralisations sont conduites sous réfrigérant à reflux pour éviter ces pertes.

La minéralisation sous reflux a l'inconvénient de maintenir dans le milieu une quantité d'eau assez importante et l'action des réactifs oxydants, tels que l'acide nitrique, l'eau oxygénée se trouve être très réduite ; il devient alors difficile d'oxyder les lipides. Certains auteurs, nous l'avons vu, conseillent de les éliminer par filtration.

La technique proposée par TRUHAUT et BOUDENE (24) qui tient compte de ces observations, permet de résoudre ces difficultés : l'eau est éliminée par distillation en milieu sulfurique jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches de SO_3 ; cette distillation ayant été au préalable précédée d'une oxydation partielle par l'eau oxygénée du minéralisant, afin d'éviter que certaines matières empyreumatiques ne se condensent sous forme de goudrons sur les parois du réfrigérant. Les traces de mercure pouvant éventuellement s'échapper au cours de cette distillation sont captées dans une solution sulfurique de permanganate.

Ces précautions prises par TRUHAUT et BOUDENE (94) sont judicieuses et permettent de conduire relativement aisément la minéralisation. La seule difficulté de la manipulation lorsqu'on veut opérer en série réside dans la place requise par l'appareillage qui doit pouvoir être basculé pour la distillation.

Un certain nombre d'autres chercheurs ont perçu également ce besoin de concentrer le minéralisat, et comme nous l'avons déjà signalé PIEN (63), KLEIN (47) ont proposé des appareils destinés à réaliser cette concentration, BETHGE (10) a également travaillé sur un appareil de ce type qui semblerait assez bien résoudre ce problème.

2°) - *Isolément du mercure*

Le procédé de TRUHAUT et BOUDENE (94) présente certains avantages sur les autres méthodes de séparation. Ils ont été amenés à effectuer un entraînement par la vapeur d'eau, car certains chercheurs (tels MILLER et WACHTER (57)) avaient bien essayé de séparer le mercure par distillation à partir d'une solution sulfurique de sulfate stanneux, mais au cours de cette dernière la concentration en acide sulfurique de la solution augmentant, il y a alors libération de vapeurs de SO_2 , qui réduisent le permanganate en solution sulfurique utilisé pour piéger le mercure.

Aussi TRUHAUT et BOUDENE (94) après avoir fixé "la concentration sulfurique optimale, c'est à dire suffisante pour permettre une bonne réduction par le sulfate stanneux, mais trop faible pour entraîner le dégagement de SO_2 " ont-ils préféré à la distillation, l'entraînement par la vapeur d'eau.

Ils ont dû également ajouter une "phase supplémentaire" à la technique d'isolement du mercure. En effet, l'entraînement effectué directement sur le liquide de minéralisation, leur donnait des résultats irréguliers. Cela est dû vraisemblablement à la présence de traces de matières organiques dans le minéralisat. Ils séparent donc le mercure du liquide de minéralisation par extraction en milieu acide à l'aide de la di- β -naphtylthiocarbazone en solution chloroformique. Ils séparent les extraits chloroformiques, ils en libèrent le mercure par agitation de ces extraits avec un faible volume de solution sulfurique à laquelle ils ajoutent une goutte d'une solution saturée de permanganate de potassium.

Puis ils ajoutent à cette solution sulfurique renfermant le mercure, le sulfate stanneux et procèdent à l'entraînement à la vapeur.

3°) - Dosage titrimétrique

Si l'on adopte le procédé de TRUHAUT et BOUDENE (14), le dosage étant donné l'isolement spécifique du mercure ne demande pas des conditions de pH rigoureuses, ni d'addition de complexon.

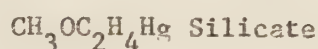
On peut doser avec la di-β-naphtylthiocarbazone des quantités de mercure de l'ordre de 0,05 γ en valeur absolue, mais les auteurs soulignent alors l'importance de la pureté des réactifs.

Non seulement les réactifs doivent être exempts de toute trace de mercure, mais ils doivent être également exempts de toute trace de produits susceptibles de masquer le mercure (Nous en avons fait l'expérience à nos dépens). En effet, nous avons eu plusieurs lots d'acétate de sodium qui dissimulaient le mercure aux doses auxquelles nous opérons, et nous avons dû prendre la précaution de vérifier chaque lot d'acétate de sodium avant son utilisation.

CHAPITRE III

ETUDE TOXICOLOGIQUE

Le Silicate de méthoxyéthylmercure qui a fait l'objet de notre travail répond à la formule :



C'est un composé pratiquement insoluble dans l'eau, dont la qualité technique que nous avons utilisée titrait 60 % de Silicate de méthoxyéthylmercure théorique et 40 % de mercure.

I - ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE : DETERMINATION DE LA DL 50 DU SILICATE DE METHOXYETHYLMERCURE

Cette première partie de notre expérimentation consistait à préciser la DL 50 du silicate de méthoxyéthylmercure.

La DL 50 exprime, par rapport au poids du corps, la dose de substance ou de formulation requise pour tuer 50 % des animaux d'expérience dans des conditions déterminées. Cette base de comparaison a été choisie par les toxicologues parce que la dose qui provoque une réaction chez 50 % des animaux est celle qui peut être déterminée avec le plus de précision.

Cependant l'expérience a prouvé que la DL 50 pouvait varier selon les espèces et les conditions du milieu : il est par conséquent nécessaire de bien spécifier les conditions de l'essai : espèce, voie d'introduction du produit, sexe, âge, poids, état de nutrition des animaux à l'essai, forme physique du produit chimique, solvant et concentration.

Etant donné que différentes espèces d'animaux, et même différentes lignées de la même espèce, peuvent présenter des degrés très divers de

sensibilité aux produits chimiques, il serait préférable de déterminer la DL 50 sur au moins 3 espèces d'animaux, dont une n'appartient pas à l'ordre des rongeurs. L'épreuve de toxicité aiguë ainsi pratiquée, permet de révéler les éventuelles différences de réceptivité en fonction de l'espèce. De plus il est nécessaire pour l'étude des toxicités à court terme d'avoir une base de départ.

Espèce animale

Lot de cinquante rats blancs femelles adultes d'un poids moyen de 213 g

Lot de soixante rats blancs mâles adultes d'un poids moyen de 320 g

Mode d'administration

Le Silicate de méthoxy-éthyl-mercure est mis en suspension dans la gélose (en solution aqueuse à 1,5 ‰). La concentration de la suspension est calculée de telle sorte que le volume administré ne dépasse pas 2 cc/animal.

L'administration est effectuée à l'aide d'une sonde métallique introduite dans l'oesophage, sur des animaux ayant jeûné depuis la veille.

Protocole expérimental

Les animaux sont placés par lots de cinq dans des cages. Ils ont libre accès à l'eau e. à la nourriture. Ils sont gardés en observation un mois environ.

Les doses administrées sont :

pour les femelles : 20, 22,5, 30, 35 mg Hg / kg

pour les mâles : 10, 12,5, 20, 22,5 mg Hg / kg

Les résultats expérimentaux sont rapportés dans les tableaux

IV et V.

TABLEAU IV

*Mortalité journalière en fonction de la dose chez les
rats blancs mâles*

Dose en mg Hg/kg	Nombre d'animaux par lots	Mortalité par jour												Mortalité totale
		I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
10	10								I					I
12,5	10	I					2							3
15	9		I		I	I								3
20	10		I	I	4	I					I			8
22,5	10		2	3	2	I								8
25	10					7	2							9

TABLEAU V

*Mortalité journalière en fonction de la dose chez les
rats blancs femelles*

Dose en mg Hg/kg	Nombre d'animaux par lots	Mortalité par jour												Mortalité totale
		I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
20	10				I									I
22,5	10	I			I	I							I	4
25	10				I	2	2	I						6
30	10				3	2	I	2						8
35	9				4	2								9

Ces tableaux nous permettent d'observer, que le maximum de mortalité apparaît les 4ème et 5ème jour après l'administration du toxique.

Etablissement de la DL 50

Les DL 50 chez le mâle et la femelle ont été calculées en utilisant la méthode de MILLER et TAINTER (55) décrite par VALETTE (101) dans son précis de Pharmacodynamie, puis la méthode de BLISS.

Méthode de MILLER et TAINTER

On porte sur un graphique en abscisse les logarithmes des doses et en ordonnée les pourcentages de mortalités exprimés en probit.

Pour les pourcentages de mortalité 0 et 100, la valeur des probits est infiniment grande. On utilise alors la suggestion de BARTLETT, qui permet de remplacer 0 par 0,25 au numérateur de la fraction $0/n$ représentant le résultat obtenu avec la dose maximum supportée, (aucun animal mort sur les n animaux employés) et de même, de remplacer n' par $n' - 0,25$ au numérateur de la fraction n'/n qui représente le résultat obtenu avec la dose 100 % mortelle. On obtient les pourcentages de mortalités et les probits. On reporte les points ainsi obtenus sur le graphique et l'on trace alors une "droite de régression provisoire" s'ajustant au mieux avec les points expérimentaux et les points résultant de la correction ci-dessus. La DL 50 est lue directement sur l'abscisse du point d'ordonnée 5.

DL 50 rat mâle = 15,85 mg Hg/kg

DL 50 rat femelle = 24,55 mg Hg/kg

Méthode de BLISS

On part du graphique tracé pour obtenir la "droite de régression provisoire" (méthode de MILLER et TAINTER) et l'on effectue la suite des opérations qui permet de calculer l'équation de la droite de régression. La droite ainsi obtenue se distingue très peu de la droite provisoire tracée au début : dans le cas des rats femelles, ces deux droites se coupent au probit 5, et la DL 50 ne subit aucun changement, pour les rats mâles, la DL 50 devient égale à 16,10 mg Hg/kg.

Symptomatologie de l'intoxication

Les animaux soumis à l'intoxication au silicate de méthoxy-éthyl-mercure sont selon l'importance de la dose ingérée, plus ou moins affectés. Les symptômes peuvent apparaître avec certaines doses assez rapidement : les animaux n'absorbent pas de nourriture, pas d'eau de boisson, ils ont un rythme respiratoire irrégulier, des tremblements des membres apparaissent, leurs déplacements sont difficiles, leurs poils se hérissent, ils présentent des diarrhées profuses et sanguinolentes. Pour certain d'entre eux, la mort apparaît, avec amaigrissement souvent important. Les survivants mettent en moyenne un mois avant de récupérer leur poids initial.

Comparaison avec les données bibliographiques

La toxicité aiguë du silicate de méthoxy-éthyl-mercure a été également l'objet de recherches de la part du Laboratoire des Petits Vertébrés de l'INRA. En effet l'importance des traitements de semences et certaines mortalités de gallinacées - gibier ont attiré l'attention de GIBAN et de GROLLEAU. Ils ont donc cherché à établir quelles pouvaient être les conséquences des traitements de semences à l'égard de ces animaux et ont été amenés à examiner les principaux insecticides et fongicides utilisés pour ces traitements.

GIBAN (29) avait établi que pour le rat blanc femelle, les DL 0 et DL 100 du silicate de méthoxy-éthyl-mercure per os, étaient voisines de 14 et 21 mg de mercure / kg et que pour le chlorure de méthoxy-éthyl-mercure elles étaient de l'ordre de 21 et 30 mg de mercure par kg.

GROLLEAU (33) déterminant la toxicité par ingestion unique du silicate de méthoxy-éthyl-mercure chez les gallinacées-gibier, a obtenu les résultats suivants :

TABLEAU VI

DL du silicate de méthoxy-éthyl-mercure

(d'après GROLLEAU)

Espèce	Nombre d'animaux expérimentés	DL 0 (en mg Hg/kg)	DL 100 (en mg Hg/kg)	DL 50 (en mg Hg/kg)
Coq nain	19	20	40	38
Perdrix grise	9	10	15	non calculable
Perdrix rouge	13	15	30	18
Faisan	18	8	30	18

Les chiffres de DL 50 que nous avons obtenus :

- rat blanc mâle : 16,10 mg de mercure par kg
- rat femelle : 24,55 mg de mercure par kg

sont en accord avec ceux obtenus par GIBAN (29) et GROLLEAU (33) sauf pour le Coq nain qui semble nettement moins sensible.

Nous avons un certain nombre de données sur la toxicité aiguë d'autres composés mercuriels : notamment du chlorure mercurique, de l'acétate de phénylmercure, du nitrate de phénylmercure, de la dicyandiamide de méthylmercure (tableau VII).

Si on compare les DL 50 obtenues, sur les mêmes animaux et par la même voie d'introduction dans l'organisme, nous obtenons l'ordre de toxicité suivant :

Silicate de méthoxyéthylmercure > chlorure mercurique > nitrate de phénylmercure

TABLEAU VII

Toxicité aiguë de différents composés mercuriels

Composés mercuriels	Animal	Voie	mg/kg	Durée des observa- tions	Auteurs
Chlorure mercuriel	Souris	S.C.	23	-	WIEN (103)
	Souris	I.V.	7,6	-	WIEN (-)
	Souris	I.V.	14 + 2,4	3 heures	LEHMAN (51)
	Souris	I.V.	4,8 + 0,8	72 heures	LEHMAN (-)
	Lapin	S.C.	10	-	HESSE (37)
	Rat	P.O.	37	72 heures	LEHMAN (51)
	Souris	P.O.	10	14 jours	GOLDBERG & col. (31)
Acétate de phénylmercure	Rat	I.P.	10	-	SWENSSON (81)
	Souris	P.O.	70	14 jours	GOLDBERG & col. (31)
	Poussin	P.O.	60	-	MILLER & col. (56)
	Coq nain	P.O.	251	1 mois	GROLLEAU (33)
	Perdrix grise	P.O.	37	1 mois	GROLLEAU (33)
Chlorure de phénylmercure	Souris	S.C.	45	-	WIEN (103)
	Souris	I.V.	27	-	WIEN (-)
	Rat	S.C.	63	-	WIEN (-)
	Rat mâle	P.O.	85 + 7	48 heures	RAYMOND (68)
	Rat mâle	P.O.	70 + 7,5	72 heures	RAYMOND (-)
	Rat mâle	P.O.	52 + 5	96 heures	RAYMOND (-)
Cyanuramide de méthylmercure	Coq nain	P.O.	17	1 mois	GROLLEAU (33)

Mais en réalité les résultats obtenus par un certain nombre de chercheurs, nous permettent cependant de constater que la DL 50 est plus élevée, lorsque la durée des observations est plus courte. Ce phénomène apparaît aussi bien avec les sels minéraux qu'avec les composés organiques (tableau VII). Ainsi LEHMAN (51) avec le chlorure mercurique note que la DL 50 chez la souris passe de 14 mg/kg en 3 h à 4,8 mg/kg en 72 h. RAYMOND (68) pour le nitrate de phénylmercure constate qu'elle varie de 85 mg/kg en 48 h à 52 mg/kg en 96 h.

La DL 50 que nous avons obtenue pour le Silicate de méthoxyéthylmercure repose sur un temps d'observation d'un mois et dans ce cas, nous pouvons constater que les mortalités notables commencent à apparaître le 4ème jour et se poursuivent le 5ème jour. Une certaine mortalité apparaît encore les 6ème et 7ème jour (tableaux IV et V).

En considérant les données bibliographiques qui montrent que la toxicité aiguë apparente d'un composé augmente lorsque les délais d'observation sont plus longs, la comparaison n'est plus possible avec les données de LEHMAN (51) et RAYMOND (68) et il n'est plus absolument certain que le Silicate de méthoxyéthylmercure soit plus toxique que le chlorure mercurique et que le nitrate de phénylmercure.

II - ETUDE DE LA TOXICITE A COURT TERME

Les données qui peuvent être fournies par l'étude de la toxicité à court terme, sont d'un intérêt dont on ne saurait assez souligner l'importance dans le cas du silicate de méthoxy-éthyl-mercure et cela en raison des propriétés du mercure lui-même.

La toxicité à court terme, apparaît à la suite d'absorption répétées de petites doses. Ce sont surtout les composés qui s'accumulent dans l'organisme, par suite de la lenteur de leur élimination, qui sont susceptibles d'atteindre, au bout d'un certain temps, au niveau des récepteurs sensibles, le seuil de concentration nécessaire à la manifestation des effets toxiques.

Les troubles ainsi observés peuvent avoir une symptomatologie variée : action sur la croissance, la fécondité, le comportement général.

Des modifications peuvent survenir, notamment dans la formule sanguine, la structure histologique des organes. Certains symptômes ne peuvent être décelés par l'observation des animaux ; seule l'observation des sujets humains peut permettre de les révéler : ce sont certains troubles sensoriels et psychiques, les étourdissements, les céphales, qui cependant peuvent se produire au cours des intoxications par certains dérivés alkyl-mercure.

Les animaux d'expériences utilisés sont le plus souvent le rat et la souris ; leur durée de vie étant assez courte, l'on peut espérer voir se manifester assez rapidement les troubles décrits ci-dessus. Nous avons choisi pour nos essais le rat et la durée de notre expérimentation a porté sur cinq à six mois, c'est-à-dire environ le 1/4 de la durée de vie moyenne des animaux.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

L'expérimentation a porté sur plusieurs séries avec différentes doses :

- | | | |
|--------|--|---|
| - 1 | mg Hg/kg/jour du silicate de méthoxy-éthyl-mercure | |
| - 1,75 | mg Hg/kg/jour | - |
| - 5 | mg Hg/kg/jour | - |
| - 10 | mg Hg/kg/jour | - |

Les rats étaient âgés de 6 à 7 semaines au début de l'expérimentation. L'importance des lots d'animaux se situait entre 10 et 25 animaux de chaque sexe pour chacune des séries étudiées.

Le Silicate de méthoxy-éthyl-mercure était administré sous forme de suspension dans la gélose (en solution aqueuse à 1,5 %). Les animaux étaient sondés tous les jours dans les deux premières séries et six jours par semaine dans les deux autres séries.

Ils avaient libre accès à l'eau et à la nourriture.

ETUDE DES EFFETS DE L'INTOXICATION A COURT TERME

Les animaux étaient pesés individuellement à des intervalles réguliers de cinq et dix jours. Chaque cage contenait cinq animaux.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux VIII, IX, X, XI et sont traduits par les figures 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11.

Au cours de l'établissement des courbes de croissance, nous avons été amenés à nous demander quelle pouvait-être l'influence de la disparition d'une partie des animaux au cours de notre expérimentation (soit que nous ayons sacrifié des animaux à des fins de localisation du toxique dans les viscères, soit qu'ils aient été éliminés par mortalité). Nous avons comparé, dans ce but, les courbes de croissance établies avec les seuls animaux présents du début à la fin de l'essai, aux courbes obtenues avec les animaux présents au moment précis de chacune de nos pesées. Nous n'avons pas noté de différence significative entre ces deux types de courbes.

Le Silicate de méthoxyéthylmercure provoque un léger retard de croissance (figure n° 12) chez le rat mâle aux doses de 1 - 1,75 - 5 mg Hg/kg/jour. Ce retard atteint 3 à 16 % du taux de croissance des animaux témoins entre le 1er et le 6ème mois d'expérimentation. Il devient important à la dose de 10 mg Hg/kg/jour (22 % après 1 mois d'expérimentation) et s'élève encore pour atteindre 40 % le 6ème mois.

Chez les rats femelles, ce retard est moins accentué. De l'ordre de 5 et 10 % pour les doses de 1 et 1,75 mg Hg/kg/jour, il varie peu en fonction de la durée de l'intoxication. Cependant avec 10 mg Hg/kg/jour, il atteint 10 à 17 % entre le 1er et le 6 mois d'expérimentation.

Ces observations concernant le silicate de méthoxyéthylmercure, rejoignent celles qui ont été faites pour les composés phénylmercure. Ainsi FITZHUGH et col. (24) ont noté que l'acétate de phénylmercure commençait à retarder la croissance chez le rat mâle à 0,5 mg/kg/jour (soit 10 ppm dans la ration) ; à 2 mg/kg/jour (40 ppm), ce retard est significatif pour les deux sexes, et à 8 mg/kg/jour (160 ppm) l'effet devient particulièrement net.

Pour le nitrate de phénylmercure, RAYMOND (68) n'a pu noter d'action sur la croissance chez le rat, mais la prise maximum de mercure a été ici de l'ordre de 0,8 mg Hg/kg/jour.

Avec les sels mercuriques, l'effet est moins important qu'avec les composés organiques précédents. Ainsi FITZHUGH et col. (24) notent

TABLEAU VIII

Série I mg de Hg/kg/jour

Durée de l'in- toxication (en jours)	Mâles témoins	Femelles témoins	Mâles traités	Femelles traitées
-	77	120	86	119
-	116	143	118	135
10	158	164	162	156
20	196	181	192	173
30	228	193	213	183
40	251	201	235	190
50	266	207	253	194
60	272	212	258	198
70	281	214	260	200
80	295	217	265	202
90	314	222	282	204
100	325	226	293	208
110	333	228	295	210
120	325	226	290	211
130	314	224	290	212
140	316	222	291	212
150	323	224	294	214
160	330	225	299	217
170	338	227	304	218

TABLEAU IX

Série I, 75 mg de Hg/kg/jour

Durée de l'in- toxication (en jours)	Mâles témoins	Femelles témoins	Mâles traités	Femelles traitées
-	77	120	99	113
-	116	143	130	130
10	158	164	170	148
20	196	181	202	163
30	228	193	222	173
40	251	201	242	180
50	266	207	256	184
60	272	212	261	188
70	281	214	264	190
80	295	217	267	192
90	314	222	281	198
100	325	226	286	200
110	333	228	288	200
120	325	226	283	202
130	314	224	280	202
140	316	222	282	203
150	323	224	284	204
160	330	225	288	204
170	338	227	291	206

TABLEAU X

Série 5 mg de Hg/kg/jour

Durée de l'in- toxication (en jours)	Mâles témoins	Mâles traités
-	101,5	120
10	127	135
20	156	155
30	182	175
40	206	202
50	240	224
60	264	241
70	286	254
80	306	268
90	318	277
100	329	285
110	343	291
120	349	290
130	352	290
140	352	290
150	352	294
160	352,5	295

TABLEAU XI

Série 10 mg Hg/kg/jour

Durée de l'in- toxication (en jours)	Mâles témoins	Femelles témoins	Mâles traités	Femelles traitées
-	127	88	127	91
10	160	114	144	104
20	195	134	155	119
30	218	141	169	128
40	262	148	181	133
50	287	155	192	146
60	305	162	199	153
70	318	170	209	160
80	328	176	220	164
90	336	180	230	168
100	348	186	238	172
110	360	191	231	174
120	368	193	235	163
130	374	194	241	173
140	381	203	243	182
150	390	219	243	184
160	404	224	229	185
170	406	224	244	186

FIGURE N° 5. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 1 mg Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des rats mâles.

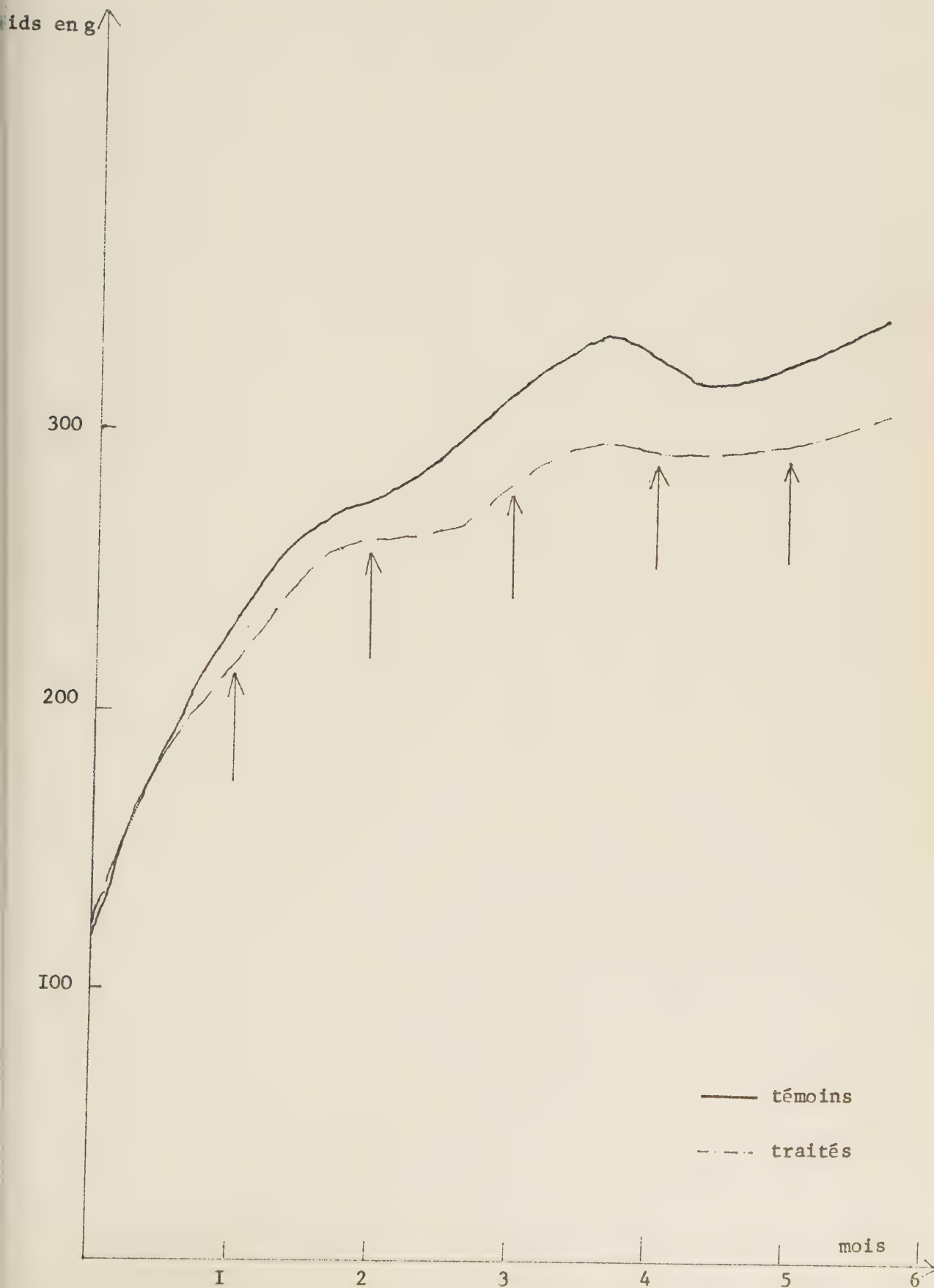


FIGURE N° 6. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 1 mg de Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des rats femelles

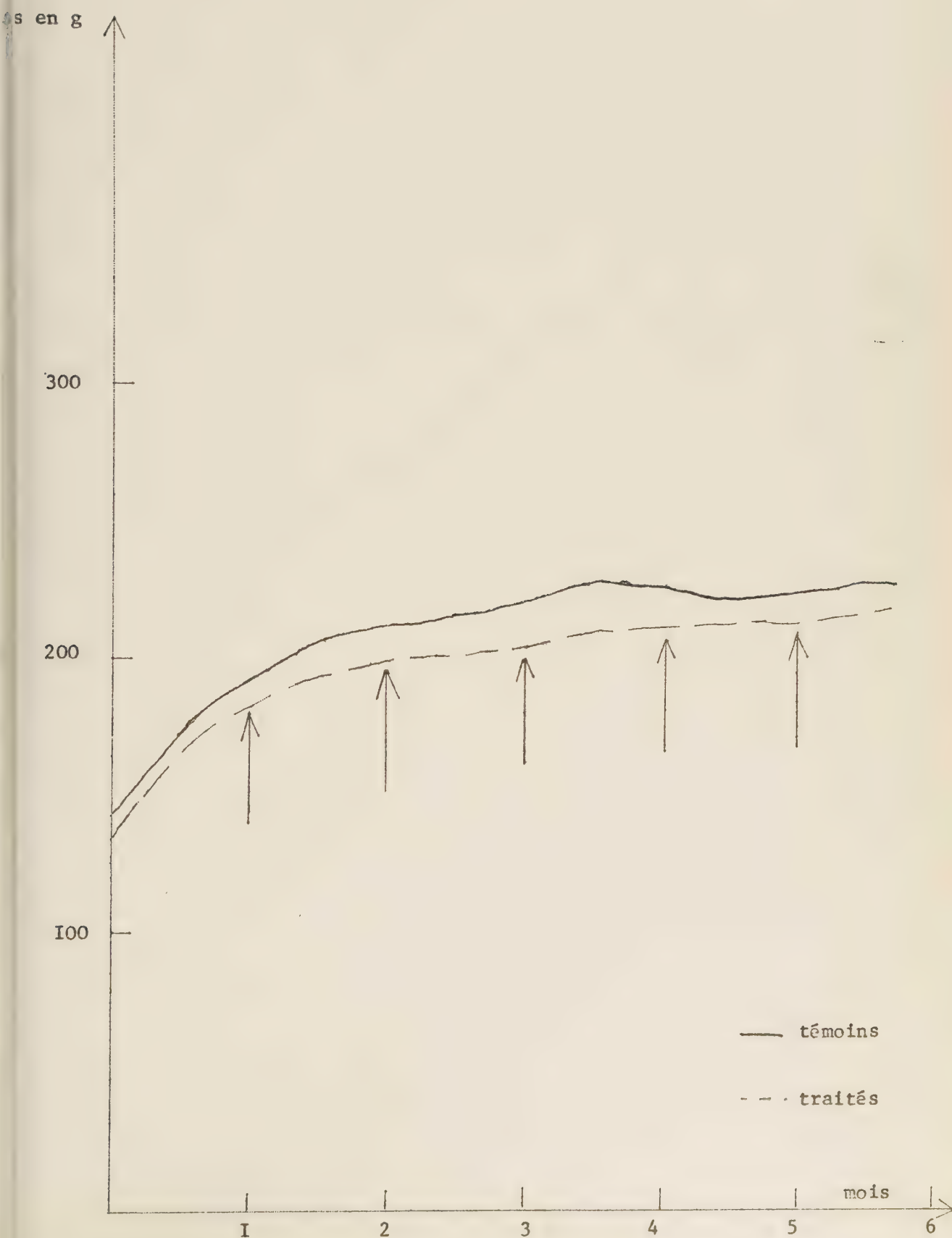


FIGURE N° 7. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 1,75 mg Hg/kg₂/jour sur la courbe pondérale des rats mâles

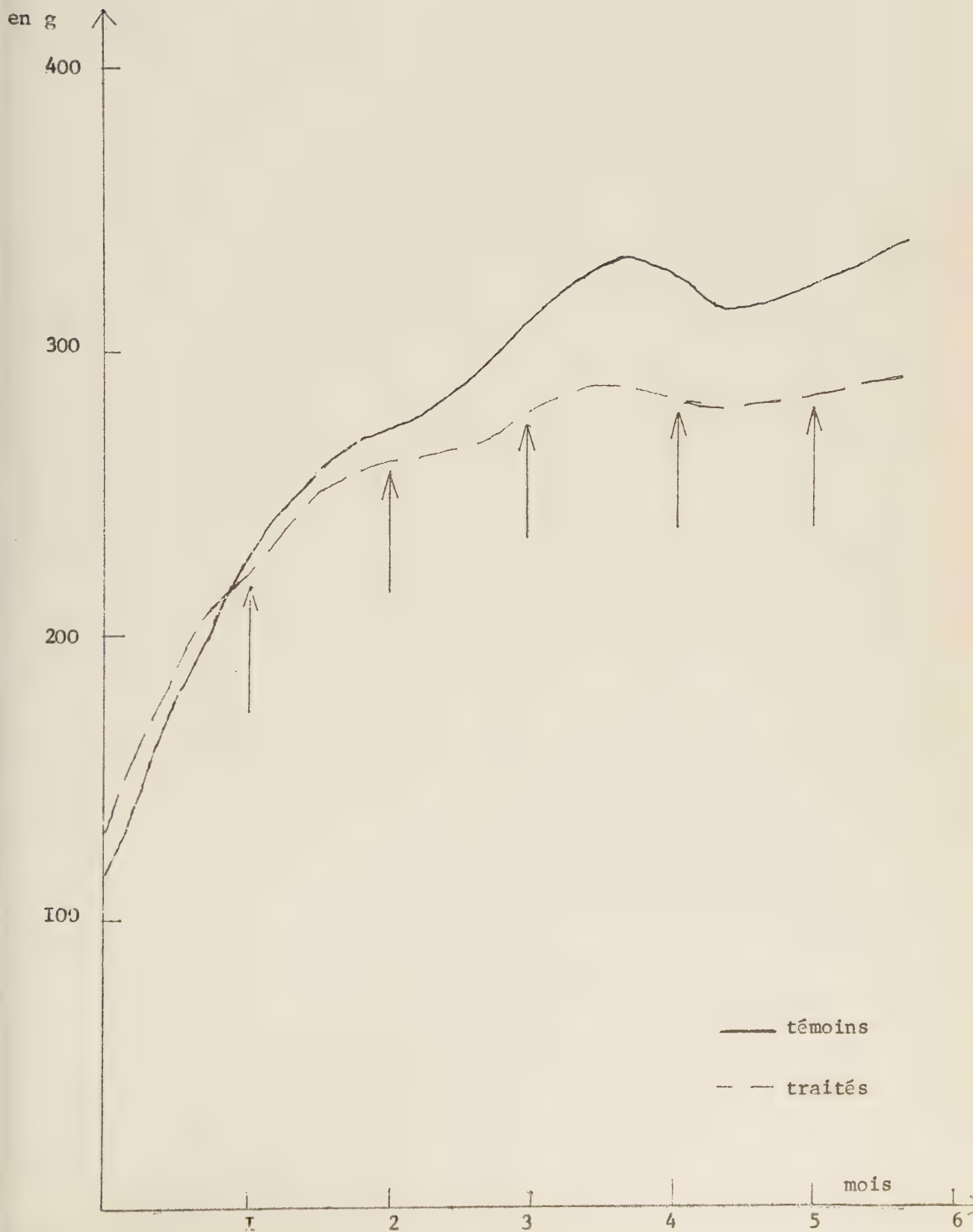


FIGURE N° 8. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 1,75 mg Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des rats femelles

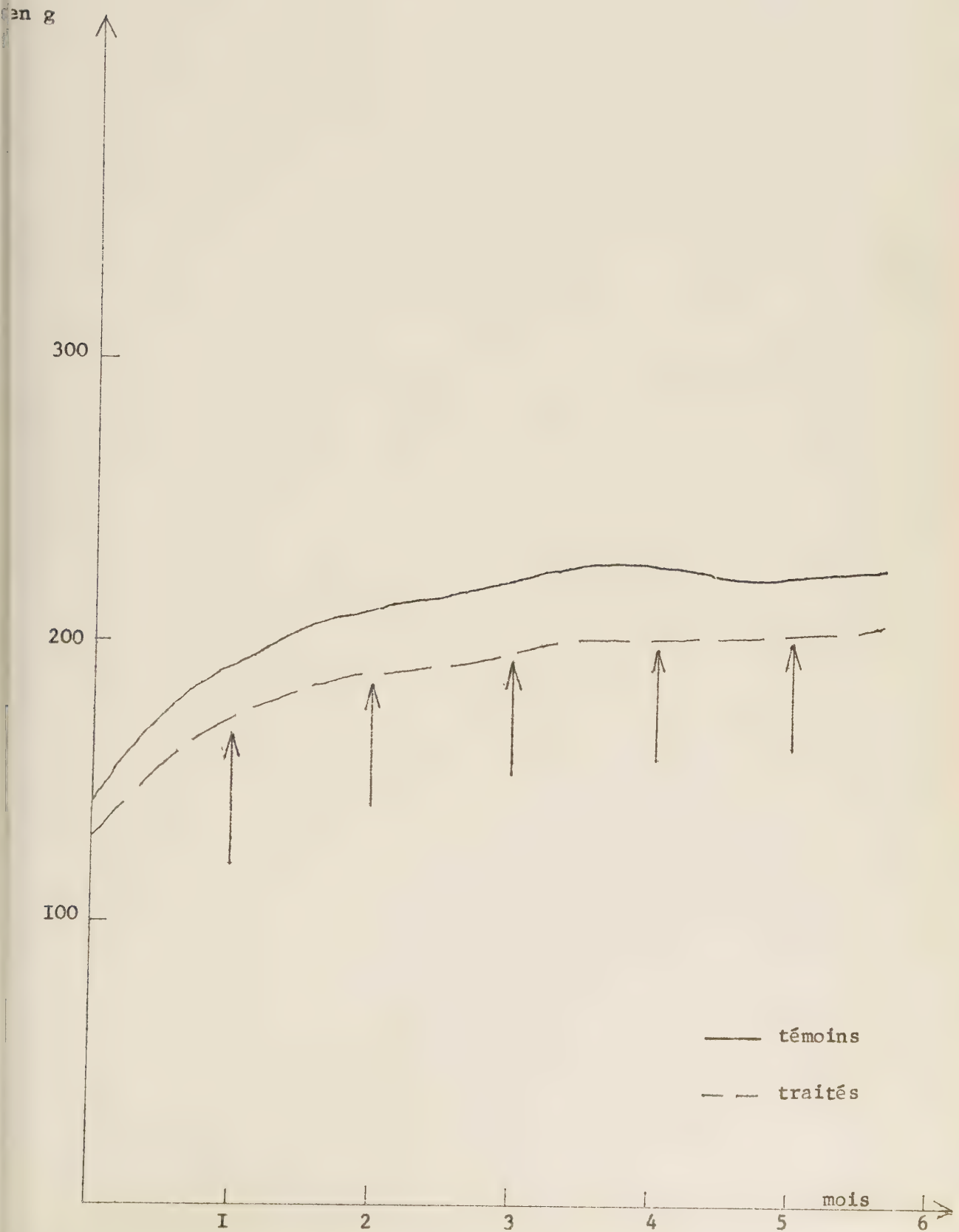


FIGURE N° 9. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 5 mg Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des Rats mâles

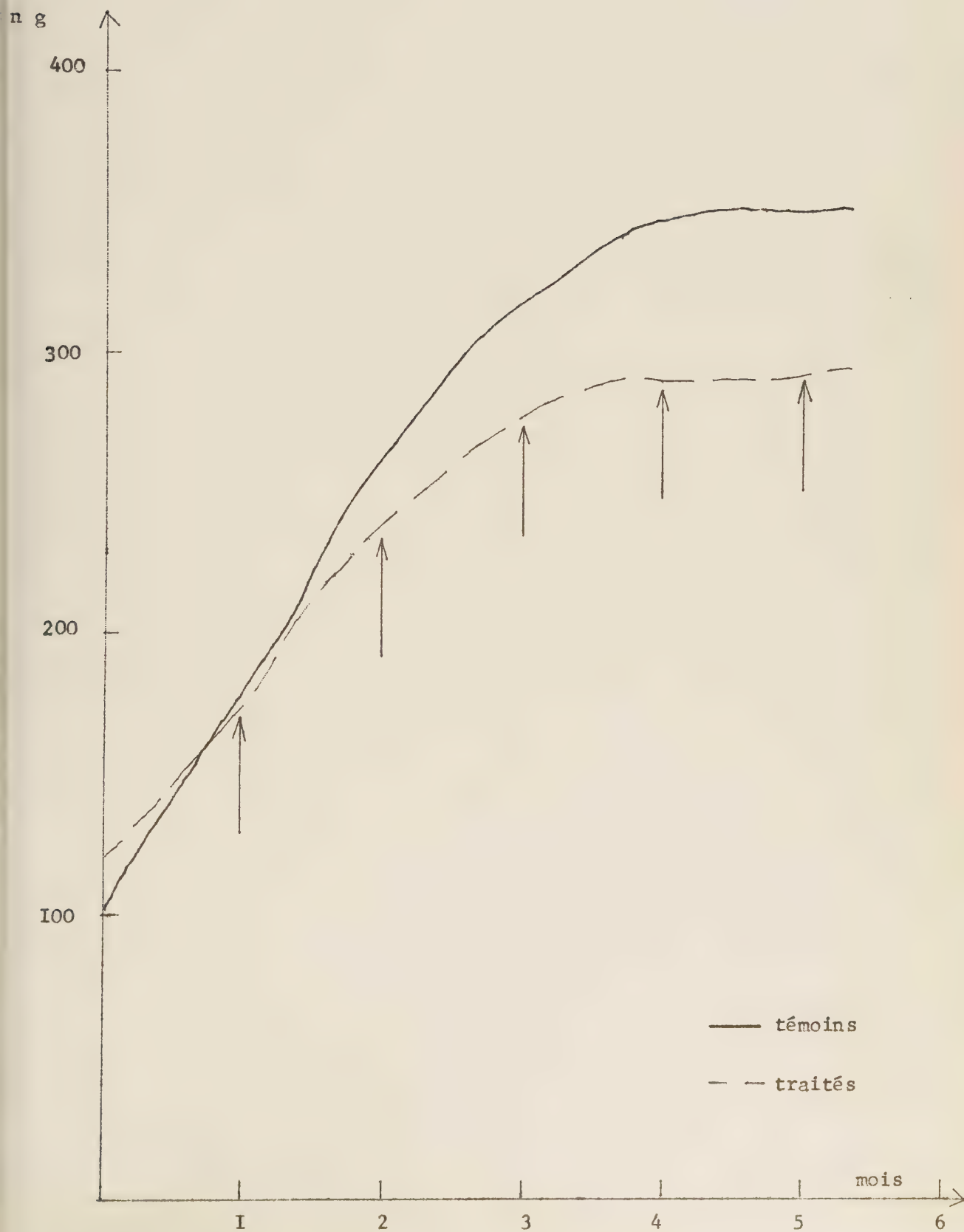


FIGURE N° 10. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 10 mg Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des rats mâles

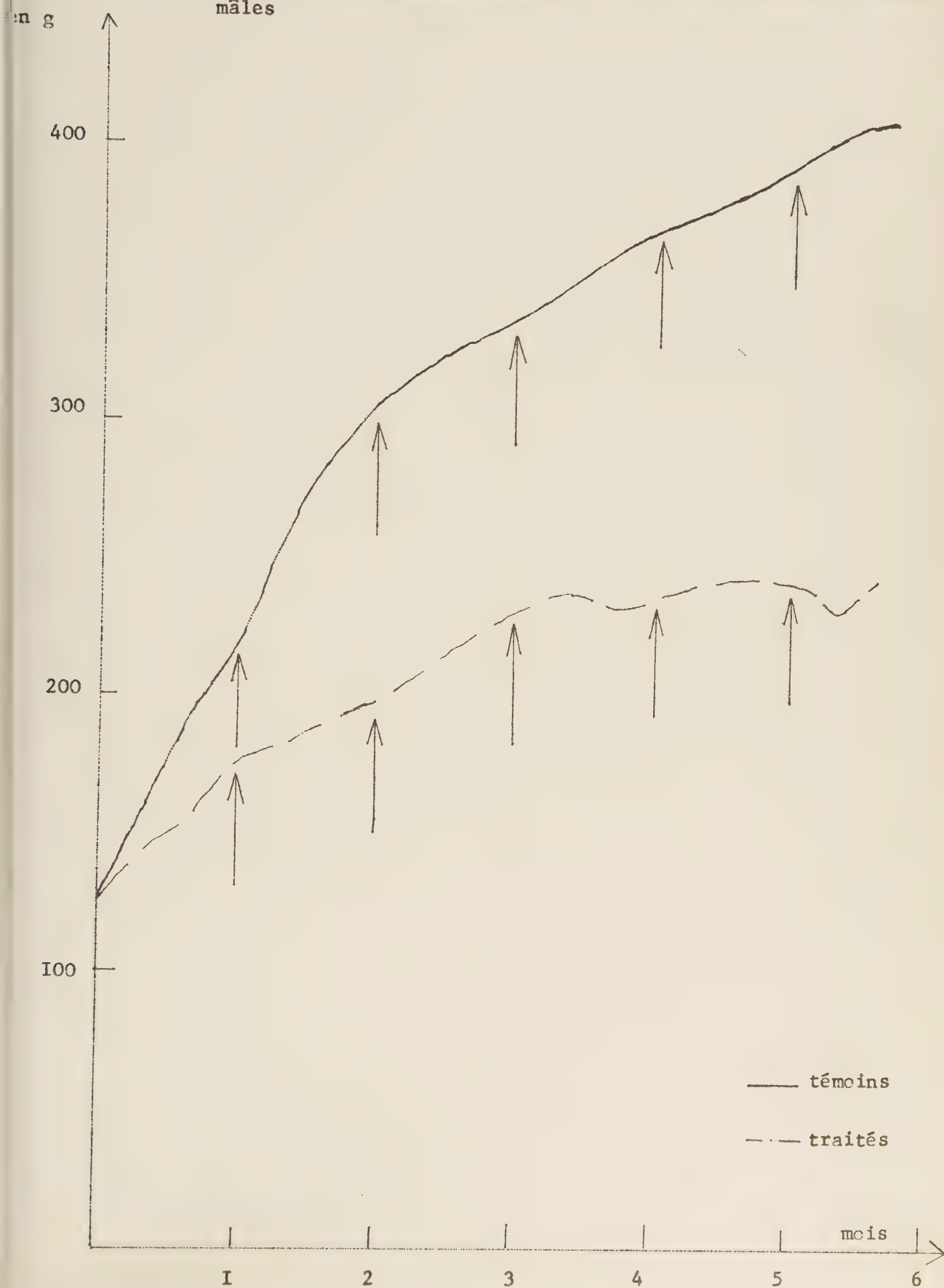


FIGURE N° II. - Influence de l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 10 mg Hg/kg/jour sur la courbe pondérale des rats femelles

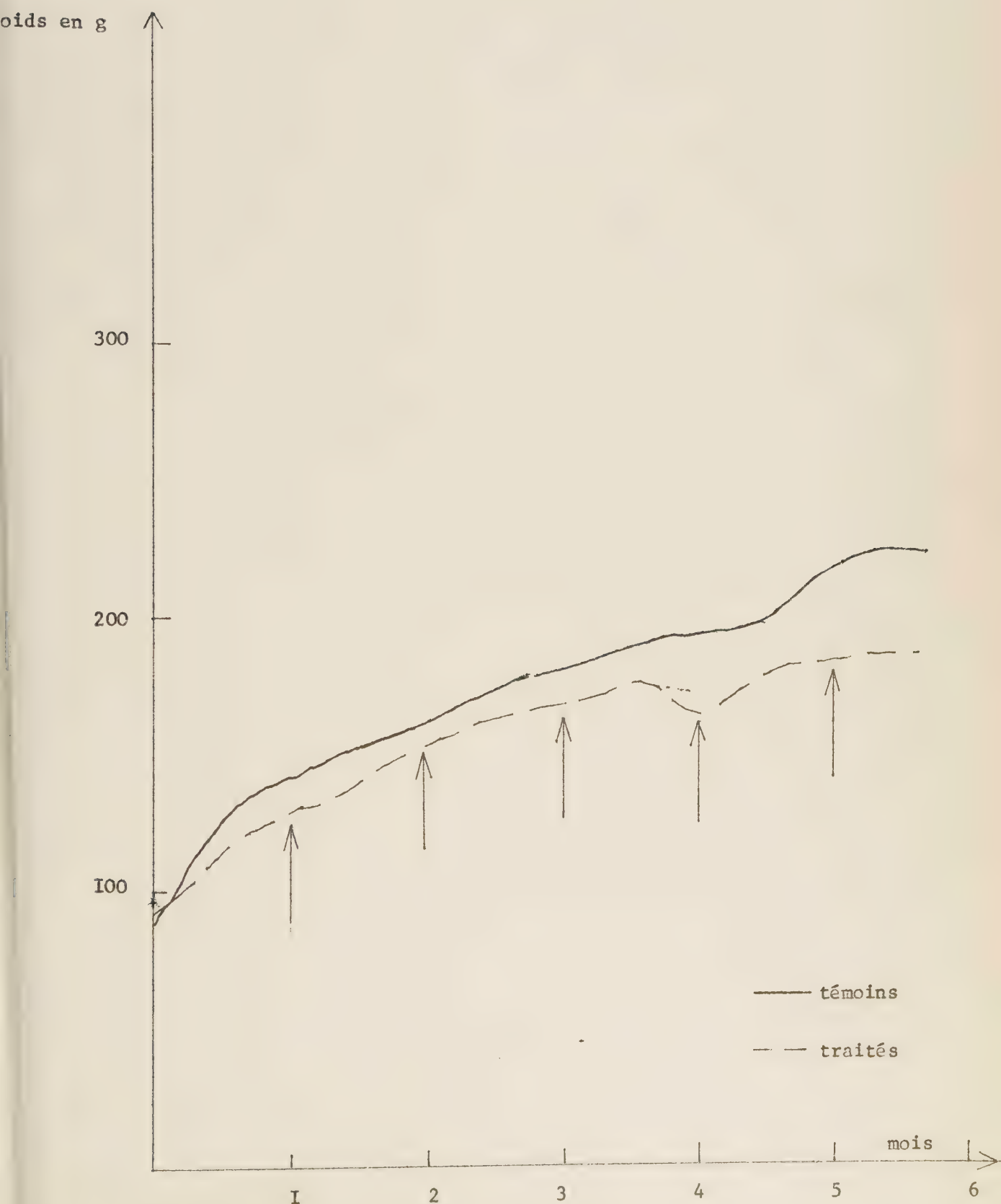


FIGURE N° 12. - Retard de croissance en fonction de la dose et de la durée d'expérimentation (exprimé en % de la croissance des témoins).

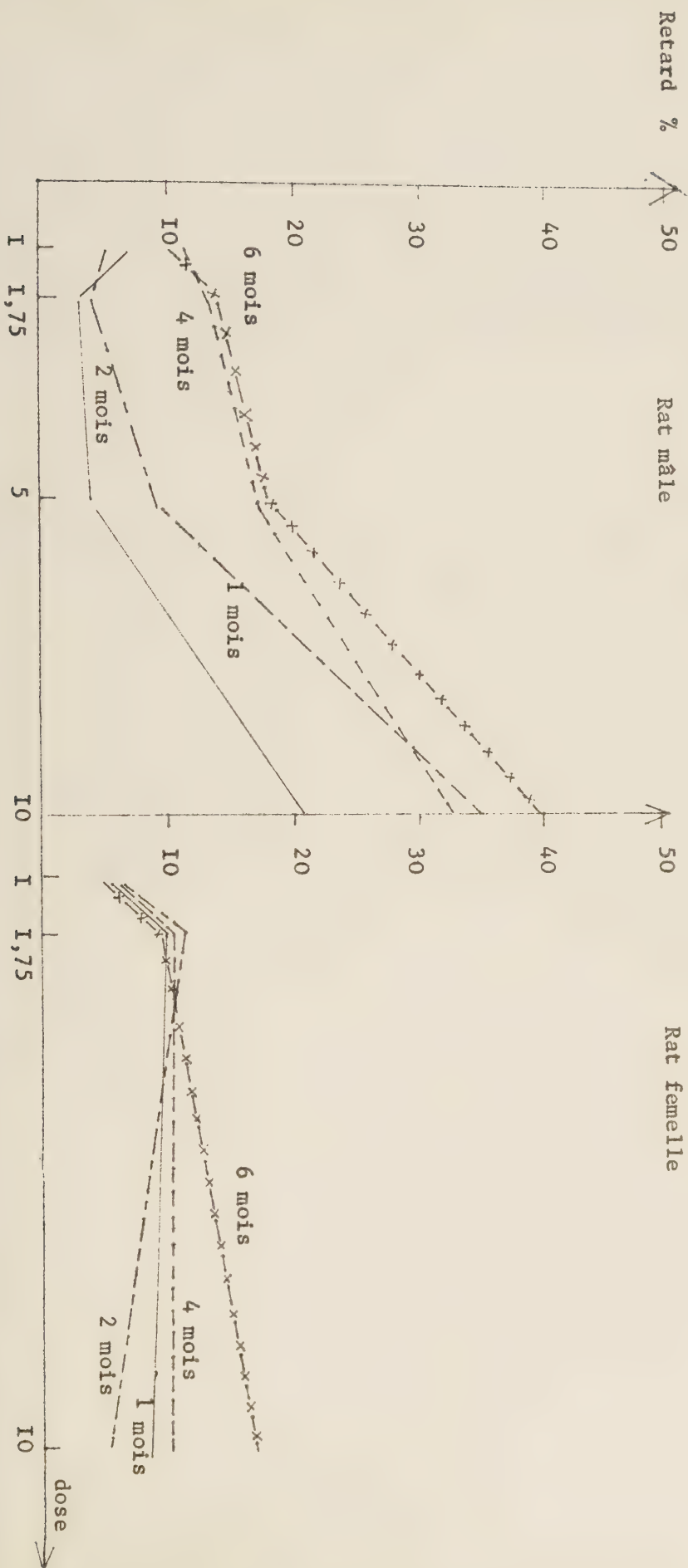


TABLEAU XII

*Pourcentage de mortalité observé pendant la durée
de l'expérimentation avec le silicate de méthoxy-
éthyl-mercure*

Dose	Mâles		Femelles	
	intoxiqués	témoins	intoxiquées	témoins
I mg Hg/kg/jour	26,3 %	0 %	6,25 %	0 %
I,75 mg Hg/kg/jour	40	0	7	0
5 mg Hg/kg/jour	13	6,5	-	-
10 mg Hg/kg/jour	84,5	0	20	0

qu'à 8 mg/kg/jour (160 ppm), l'acétate mercurique est sans action sur la croissance des femelles, tandis que chez les mâles l'effet est peu important. Des taux plus faibles d'acétate mercurique n'agissent ni sur les mâles ni sur les femelles. RAYMOND (68) avec le chlorure mercurique à 0,8 mg/kg/jour n'observe aucune action sur la croissance.

Nous avons observé également une influence du silicate de méthoxyéthylmercure sur la mortalité (tableau XII). Chez le mâle, le pourcentage de mortalité au cours des six mois d'intoxication varie de 13 à 85 %, le taux le plus élevé étant atteint avec la dose de 10 mg Hg/kg/jour. Chez les femelles, le taux de mortalité est nettement plus faible et à la dose la plus élevée, il atteint seulement 20 %.

RAYMOND (68) et HELL et SCHMIDT (36) ont également observé des pourcentages de mortalité plus élevés chez les rats mâles que chez les rats femelles.

2°) - Sur la reproduction

Nous avons étudié la reproduction chez les animaux des deux premières séries (I et I,75 mg Hg/kg/jour).

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XIII.

Nous constatons que les taux de natalité sont sensiblement voisins pour les animaux témoins et traités.

Les jeunes ratons qui ont survécu n'ont pas présenté de troubles de croissance. L'analyse de deux portées de ratons dont les mères avaient reçu durant 50 et 60 jours 1,75 mg Hg/kg/jour, a montré que la teneur en mercure n'excédait pas 0,08 γ /gramme.

3°) - Sur la formule sanguine

Cette étude a été réalisée sur les animaux intoxiqués à la dose de 10 mg Hg/kg/jour après 3 et 5 mois d'intoxication (lots de 5 animaux). Elle est traduite par les tableaux XIV et XV.

TABEAU XIII

Reproduction

Dose de mercure	Nbre de mois après le début du traitement	Nombre d'animaux accouplés	Nombre d'animaux nés	Délai entre début du traitement et naissance	Survie observée sur une période de 4 mois
I mg Hg/kg	I mois	5 couples	38 A	8-10 semaines	21 A
I,75mg Hg/kg	I mois	5 couples (I n'a pas reproduit)	26 A (6 sacrifiés pour analyse)	7 -	17 A
Témoins	I mois	2 couples	15 A	8 -	7 A (7 A dévorés)
I,75mg Hg/kg	2 mois	3 couples	6 A (I femelle a dévoré les animaux avant dénombrement)	12 -	4 A
Témoins	2 mois	2 couples (I couple n'a pas reproduit)	6 A	12 -	5 A
I,75mg Hg/kg	5 mois	2 couples (I couple n'a pas reproduit)	8 A	31 -	8 A
Témoins	5 mois	2 couples	6 A	28 -	6 A

TABLEAU XIV
Numération globulaire

Témoins		Traités	
Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
3 mois		3 mois	
GR 8 114 000	7 140 000	7 788 000	6 284 000
GB 10 980	15 800	17 970	18 460
5 mois		5 mois	
GR 6 656 000	6 323 000	6 050 000	5 137 000
GB 12 070	16 678	18 098	21 500

TABLEAU XV
Formule leucocytaire

Témoins		Traités	
Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
3 mois		3 mois	
Polynucléaires 27	32	32	27
Lymphocytes 73	68	68	73
5 mois		5 mois	
Polynucléaires 31	23	42	35
Lymphocytes 69	77	58	65

La lecture de ces tableaux montre que le silicate de méthoxy-éthylmercure, dans nos conditions expérimentales, n'a pratiquement pas d'effet sur la formule sanguine et sur la formule leucocytaire. RAYMOND (68) dans son étude sur le nitrate de phényl-mercure et sur le chlorure mercurique a obtenu des résultats identiques aux-nôtres.

4°) - Sur les caractéristiques histologiques des principaux organes

L'étude des lésions histologiques des organes au cours des intoxications par le mercure ou ses composés, a été l'objet d'un certain nombre de travaux. Ces travaux ont pu montrer l'importance des lésions du rein dans l'intoxication mercurielle.

Au terme de notre expérimentation sur le silicate de méthoxy-éthyl-mercure, nous avons prélevé les principaux organes des animaux ayant succombé au traitement ou ayant été sacrifiés.

L'étude histologique a été réalisée sur les organes suivants : cerveau, cervelet, coeur, estomac, foie, hypophyse, intestins, moelle épinière, ovaire, pancréas, poumons, rate, surrénales, testicules, thyroïde. C'est seulement au niveau de l'intestin et du rein que se sont manifestées des lésions.

En effet, dès l'autopsie, chez le rat mâle, aux doses de 5 et 10 mg de mercure / kg / jour, le gros intestin apparaît nécrosé chez 80 % des animaux. On observe également cette ulcération chez quelques femelles de la série 10 mg. D'autre part, nous avons pu noter assez souvent pour le rein, une certaine pâleur de cet organe. Mais c'est l'examen histologique du rein qui nous a permis de préciser l'importance des lésions.

Ainsi avec les doses de 1 et 1,75 mg Hg/kg/jour, les modifications histologiques sont peu importantes et l'on peut noter chez quelques animaux des altérations discrètes de l'épithélium des tubes droits et de rares petits foyers d'infiltration interstitielle par des cellules rondes.

Aux doses de 5 et 10 mg Hg/kg/jour, tous les animaux examinés présentent des foyers plus importants de sclérose interstitielle avec infiltrats de cellules rondes. De même, on note l'altération de l'épithélium des tubes urinifères. On observe également dans certains cas la présence de cylindres, et parfois l'épaississement des capsules glomérulaires ; épaississement également constaté par GRAHAM (32) après intoxication par les sels mercuriques.

De leur côté, avec les dérivés du phényl-mercure, FITZHUGH et col. (24) ont également observé l'apparition de lésions rénales au cours des intoxications à long terme. Ces lésions se traduisent essentiellement par des altérations des tubes urinifères.

5°) - Effets sur l'appareil urinaire du silicate de méthoxy-éthyl-mercure

L'atteinte rénale lors des intoxications mercurielles est bien connue. Les études histologiques ont permis de préciser la nature des lésions ; ainsi l'altération du glomérule ou de l'épithélium des tubes urinifères provoque des néphrites ou des modifications de la sécrétion urinaire. L'examen de l'urine et du sang permettront par conséquent d'apprécier l'action du mercure ou de ses composés sur le filtre rénal.

On peut penser que l'albuminurie et l'urémie peuvent être fonction du degré d'atteinte du rein et nous avons essayé de suivre leur évolution au cours de l'intoxication par le silicate de méthoxy-éthyl-mercure.

a) - Protocole expérimental

Les animaux expérimentés étaient des rats blancs mâles âgés de 8 semaines au début des essais. Ils étaient répartis par lots de 5 animaux.

5 lots d'animaux en intoxication

5 lots d'animaux témoins

Le silicate de méthoxy-éthyl-mercure administré par sondage à la dose de 10 mg Hg/kg/jour était en suspension dans de la gélose à 1,5°/oo dans l'eau.

Les animaux avaient libre accès à l'eau et à la nourriture.

Ils étaient sacrifiés 5, 10, 20, 30, 40 jours après le début de l'intoxication, après avoir été au préalable placés 24 heures dans une cage à métabolisme afin de recueillir l'urine. Le sang était recueilli lors du sacrifice.

b) - Recherche et dosage de l'albumine vraie

Nous avons utilisé la méthode opacimétrique de MESTREZAT. Cette méthode, très rapide et suffisamment exacte consiste à comparer l'intensité du trouble produit par coagulation de l'albumine urinaire avec l'opacité présentée par des tubes d'une gamme étalon contenant de l'albumine à des concentrations connues.

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans le tableau XVI.

Nous pouvons constater que l'urine des animaux témoins renferme de l'albumine, aussi ne pouvons-nous tirer de ces déterminations des informations sur le fonctionnement du filtre rénal après intoxication mercurielle.

c) - Dosage de l'urée dans le sang

L'urée est une substance dite sans seuil, c'est-à-dire qu'à l'état normal, le rein élimine l'urée, quelle que soit sa proportion dans le sang. Lorsque les reins sont défaillants, elle s'accumule dans le sang. L'urée étant une substance très diffusible, son taux est identique dans le plasma et les globules. Son dosage peut donc être effectué aussi bien

TABLEAU XVI

Taux d'albumine dans l'urine (en gramme/litre)

Animaux	Durée de l'intoxication (en jours)				
	5	10	20	30	40
Témoins					
N° 1	1,2	1,2	1,2	1,2	1
2	1,1	1	0,6	1,2	0,4
3	1,4	1,5	2,4	0,8	1,5
4	1	1	1,2	0,8	1
5	1	1	0,8	1,5	1,5
Moyenne	1,14	1,14	1,24	1,1	1,08
Intoxiqués					
N° 1	1,20	2	1	1,8	0,2
2	1,20	1,5	1,6	1,2	1,5
3	1,60	1	0,75	1,7	1
4	0,80	1	0,9	1,5	1
5	2,40	2	1	1,2	0,5
Moyenne	1,44	1,5	1,05	1,5	0,84

TABLEAU XVII

Taux d'urée dans le sang (mg/100 ml de serum)

Animaux	Durée de l'intoxication (en jours)				
	5	10	20	30	40
Témoins					
N° 1	41,2	41,1	44,25	36,90	40,8
2	42,4	42,6	45,90	39,30	40,2
3	42,4	46,3	55,35	37,20	42
4	43,1	42	53,70	35,50	38,9
5	45,8	43,4	56,25	41	35,8
Moyenne	43	43,1	51,10	37,90	39,55
Intoxiqués					
N° 1	51,50	41,4	87	318	45
2	54,90	55,5	76,5	44,60	46,8
3	54,25	43,6	63	58,50	74,1
4	45,30	75,9	194,4	102	134,4
5	60,30	52,6	206,5	83,40	112,8
Moyenne	53,27	53,8	125,5	121,30	82,6

sur le plasma que sur le sérum ou le sang total. Principal déchet du métabolisme azoté, son taux sanguin augmente à la suite d'ingestion d'aliment contenant de l'azote (protéine etc...) aussi convient-il de doser l'urée dans le sang des animaux à jeûn.

Nous avons utilisé la méthode de "dosage direct de l'urée sanguine par l'uréase et la réaction phénol-hypochlorite de BERTHELOT" technique mise au point par FLEURY et EBERHARD (25).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XVII.

Afin de faciliter la lecture de ce tableau, nous avons reporté les résultats sous forme de Figure n° 13

Nous nous apercevons que le taux d'urée sanguine commence à augmenter de façon significative aux environs du 20ème jour d'intoxication, et les variations individuelles de ce même taux sont également importantes dès ce moment-là.

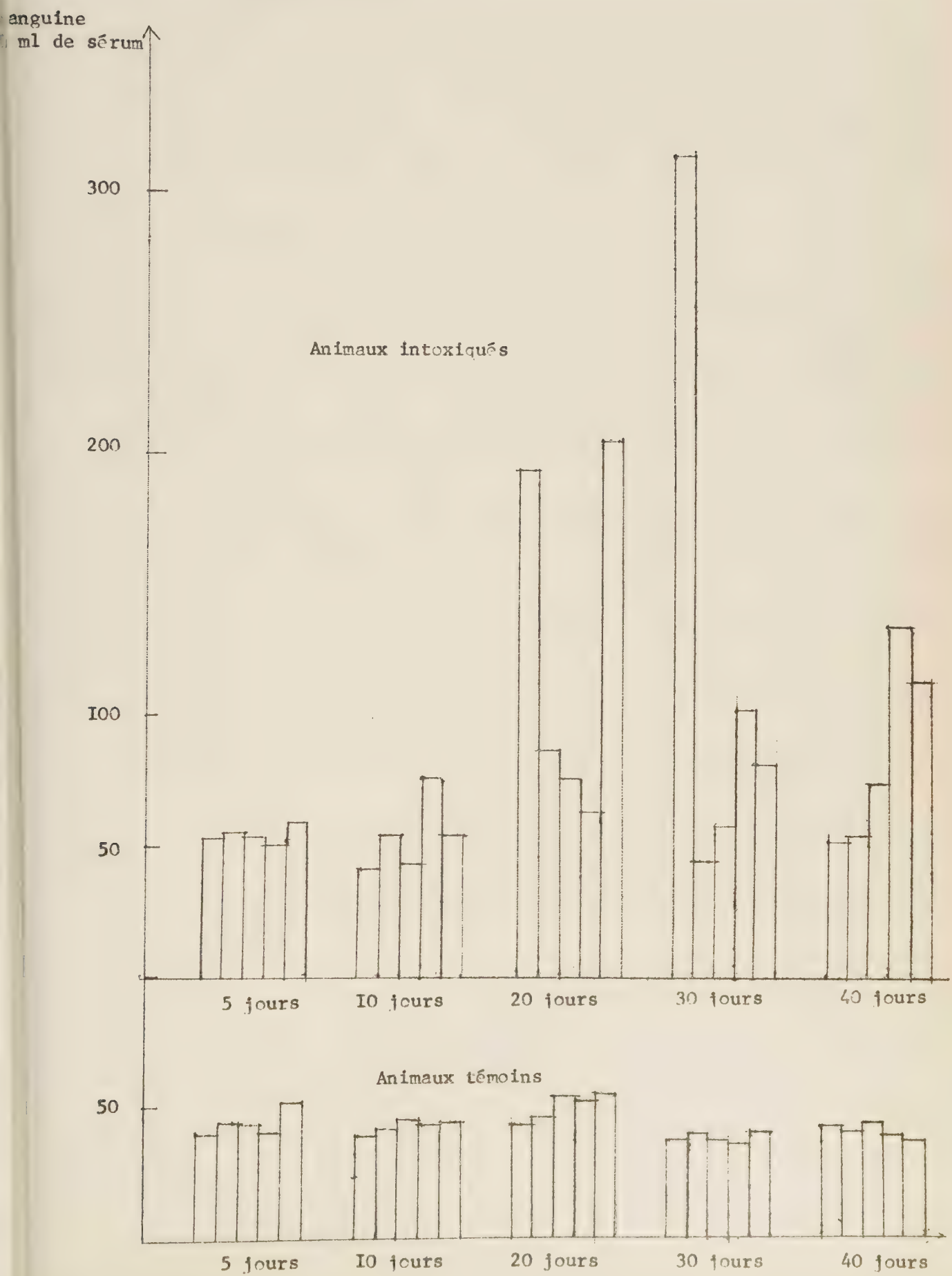
Nous avons cherché à déterminer si cette teneur élevée en urée chez les animaux avait un rapport avec certains troubles de l'organisme. Nous avons dans ce but établi les courbes de croissance individuelles des animaux soumis à l'intoxication. Ceci nous a permis d'observer que les animaux à teneur en urée importante présentaient des courbes pondérales inférieures à celles des autres animaux intoxiqués et à teneur en urée sanguine plus faible.

III - ETUDE DE LA REPARTITION DU MERCURE DANS L'ORGANISME ET DE SON ELIMINATION AU COURS DES INTOXICATIONS EXPERIMENTALES CHEZ LE RAT

Après avoir étudié les effets du silicate de méthoxy-éthylmercure sur la croissance pondérale, la reproduction, les caractéristiques histologiques des principaux organes ... il nous restait à préciser les modalités et le degré d'absorption, la répartition, le rythme de défixation du silicate de méthoxy-éthyl-mercure dans l'organisme pour être en mesure de mieux évaluer les potentialités toxiques de ce composé.



FIGURE N° 13. - Taux d'urée dans le sang en fonction de la durée de l'intoxication



Un certain nombre d'études ont été réalisées avec les composés minéraux, les composés phényl-mercure, les composés alkyl-mercure ; par contre les données sur les composés alkoxy-alkyl-mercure sont très rares, et nous espérons que notre étude nous permettra de mettre en évidence les relations qui peuvent exister avec ces autres groupes de composés.

Notre travail comprendra :

A - ETUDE DE LA REPARTITION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS

- 1 - Etude de la répartition du mercure en fonction de la durée de l'intoxication
- 2 - Etude de la répartition du mercure en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication

B - ETUDE DU RYTHME D'ELIMINATION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS

- 1 - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la durée de l'intoxication
- 2 - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication
- 3 - Etude de l'importance respective de l'excrétion urinaire et fécale.

A - ETUDE DE LA REPARTITION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS

I°) - Etude de la répartition du mercure en fonction de la durée de l'intoxication

Elle a été réalisée avec le silicate de méthoxy-éthyl-mercure à la dose de 0,5 mg Hg/kg/jour. Les animaux choisis pour nos essais étaient des rats blancs mâles (souche whistar) adultes, d'un poids variant de 300 à 400 g. Ils étaient répartis par lots de cinq animaux et avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. Le silicate de méthoxy-éthyl-mercure en suspension dans la gélose à 1,5%/oo, était administré per os, par ingestion forcée à la sonde.

Les organes homologues prélevés à l'autopsie étaient mélangés en vue de l'analyse.

La méthode utilisée pour le dosage du mercure était celle de FABRE, TRUHAUT et BOUDENE précédemment décrite.

Les animaux ont été sacrifiés 1, 5, 10, 30, 60, 90 jours après le début de l'intoxication.

Les résultats analytiques sont rassemblés dans le tableau suivant :

TABEAU XVIII

*Teneur en mercure des principaux organes
(en γ de Hg/g d'organes frais)*

Durée de l'intoxication (en jours)	Cerveau	Foie	Reins	Râte	Pancréas	Hypophyse	Thyroïde	Surrénales	Testicules
1	0,1	0,15	3,45	0,5	-	0	0	0	-
5	0,1	0,33	23,35	1,2	-	0	0	0	0,3
10	0	0,12	12,70	0	-	0	0	0	-
30	0,1	0,24	34,20	0	0,3	0	0	0	0,2
60	0,25	1,30	35,10	1	0,1	0	25	13	0,3
90	0,26	2,35	37,00	0	0,7	0	0	0	0

A la lecture du tableau, l'accumulation du mercure dans le rein est nette. A l'examen de la teneur en mercure dans ce même organe, nous constatons que cette teneur atteint assez rapidement un certain degré qui paraît stable quelle que soit la durée de l'intoxication. Pour le foie, il semblerait que l'on puisse noter une certaine augmentation de la teneur en mercure en fonction du temps.

Les teneurs en mercure obtenues au cours de nos essais sont sensiblement du même ordre que celles observées par ULFVARSON (100) avec le même radical méthoxy-éthyl-mercure sous forme d'hydroxyde dans une étude similaire portant sur 18 jours.

2°) - Etude de la répartition du mercure en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication

Les conditions expérimentales nous sont connues, ces animaux étant ceux ayant servi à l'étude de la toxicité à court terme.

Les doses étudiées sont les suivantes :

1 - 1,75 - 3 - 5 - 10 mg Hg/kg/jour

Les analyses ont été effectuées de la même manière que précédemment.

Les résultats analytiques obtenus sont rassemblés dans le tableau XIX.

L'examen des teneurs en mercure des principaux organes nous permet de noter pour le rein, comme dans notre étude précédente, qu'une certaine teneur en mercure est atteinte très rapidement et qu'elle est, aux erreurs analytiques près, sensiblement la même quelle que soit la dose administrée ; la seule différence significative a été obtenue dans le cas des animaux mâles ayant succombé au cours de l'expérimentation avec la dose la plus élevée : les reins renfermaient alors trois fois plus de mercure

que ceux des animaux femelles intoxiqués à la même dose et qui avaient survécu à l'intoxication et deux fois plus de mercure en général pour les autres doses.

TABLEAU XIX

*Teneur en mercure des principaux organes
(en γ de Hg/g d'organes frais)*

Dose	Durée de l'intoxication	Cerveau	Foie	Reins	Râte	Thyroïde	Surrénales	Muscles
I mg ♂ + ♀	I mois	0	0,43	16,50	1,8	0	0	-
	2 mois	0,25	0,51	28,50	0,5	0	0	-
I,75 mg ♂ + ♀	I mois	0,20	0,40	13	2,5	0	0	-
	2 mois	0	0,60	36	2,4	0	0	-
	5 m.I/2	0,40	0,50	15	-	18	traces	-
	7 mois	0,15	0,50	36	0,6	3	0,6	-
3 mg ♂	6 mois	0	0,60	31	1,4	traces	0	-
5 mg ♂	5 mois	traces	2,75	10,1	2,70	0	0	11,5
10 mg	♂ morts 6 mois	4	4,75	77	19	0	0	20
	♀ sacrifiées 6 mois	1,75	4,50	21	7,15	0	0	6

Il n'en a pas été tout à fait de même pour le foie ; en effet cette augmentation de la teneur en mercure semble s'être manifestée nettement avec les doses les plus élevées.

FITZHUGH et col. (24) avec l'acétate mercurique et l'acétate de phényl-mercure ont obtenu des résultats assez semblables aux nôtres. Ainsi avec chacun de ces composés incorporés au régime alimentaire, ils notent que la teneur en mercure n'a pas tendance à s'élever au niveau du rein en fonction de la durée de l'intoxication, alors qu'elle a tendance à le faire au niveau du foie. De même les différentes doses de mercure expérimentées ont peu d'influence sur la teneur des reins en mercure, alors que pour le foie ils ont pu observer une nette augmentation de cette teneur avec les doses les plus élevées.

B - ETUDE DU RYTHME D'ELIMINATION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS EXPERIMENTALES CHEZ LE RAT

Protocole expérimental

Nos expériences ont été réalisées sur des rats blancs adultes. L'importance des lots d'animaux se situait entre 4 et 8 animaux.

Le silicate de méthoxy-éthyl-mercure était administré sous forme de suspension dans l'eau gélosée à 1,5 %. Les animaux sondés tous les jours, avaient libre accès à l'eau et à la nourriture.

Ils étaient placés 24 h sur 24 dans des cages à métabolisme en lucoflex (afin d'éviter les pertes en mercure par amalgamation).

Ils étaient pesés à des intervalles réguliers et les doses administrées étaient éventuellement réajustées en fonction du poids de chacun des animaux.

La teneur en mercure de l'urine, ou des fèces, était déterminée par les méthodes de FABRE, TRUHAUT et BOUDENE décrites dans notre chapitre des méthodes d'analyses.

I°) - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la durée de l'intoxication

Cette étude a été réalisée avec le silicate de méthoxy-éthylmercure à la dose de 0,5 mg Hg/kg/jour. La durée de l'intoxication était de 30 jours. Nous avons poursuivi la recherche du mercure dans l'urine après la cessation de l'administration du composé mercuriel et cela jusqu'à ce que les teneurs en mercure deviennent négligeables. Cette expérience a été réalisée avec un lot d'animaux mâles et femelles en nombre équivalent.

Les résultats analytiques sont rassemblés dans les tableaux XX et XXI. Nous avons traduit par la figure n° I4 , la courbe d'excrétion journalière en mercure.

Nous constatons que l'excrétion urinaire du mercure s'élève rapidement la 1ère semaine au cours d'une administration répétée , puis semble se stabiliser dans les semaines suivantes : elle est alors de l'ordre de 15,5 % de la quantité de mercure administrée quotidiennement.

GAGE (27) avec l'acétate de phényl-mercure, à une dose sensiblement voisine de la nôtre constate également qu'à partir de la 2ème semaine, le taux d'excrétion est sensiblement constant.

ULFVARSON (100) au contraire, avec des doses plus faibles 0,1 mg de Hg/kg/jour obtient aussi bien avec les dérivés du méthoxy-éthyl-mercure, qu'avec ceux du méthyl-mercure et du phényl-mercure un accroissement de l'excrétion au cours de l'intoxication.

Ces différentes données sont rassemblées dans le tableau XXII.

Nous constatons aussi dans notre expérimentation, qu'après l'arrêt de l'intoxication, le taux d'excrétion du mercure par voie urinaire diminue assez rapidement et vingt jours après la fin de l'intoxication il est pratiquement nul.

FIGURE N° 14. - Courbe d'excrétion urinaire du mercure pendant et après l'intoxication au Silicate de méthoxyéthylmercure à la dose de 0,5 mg Hg/kg/jour

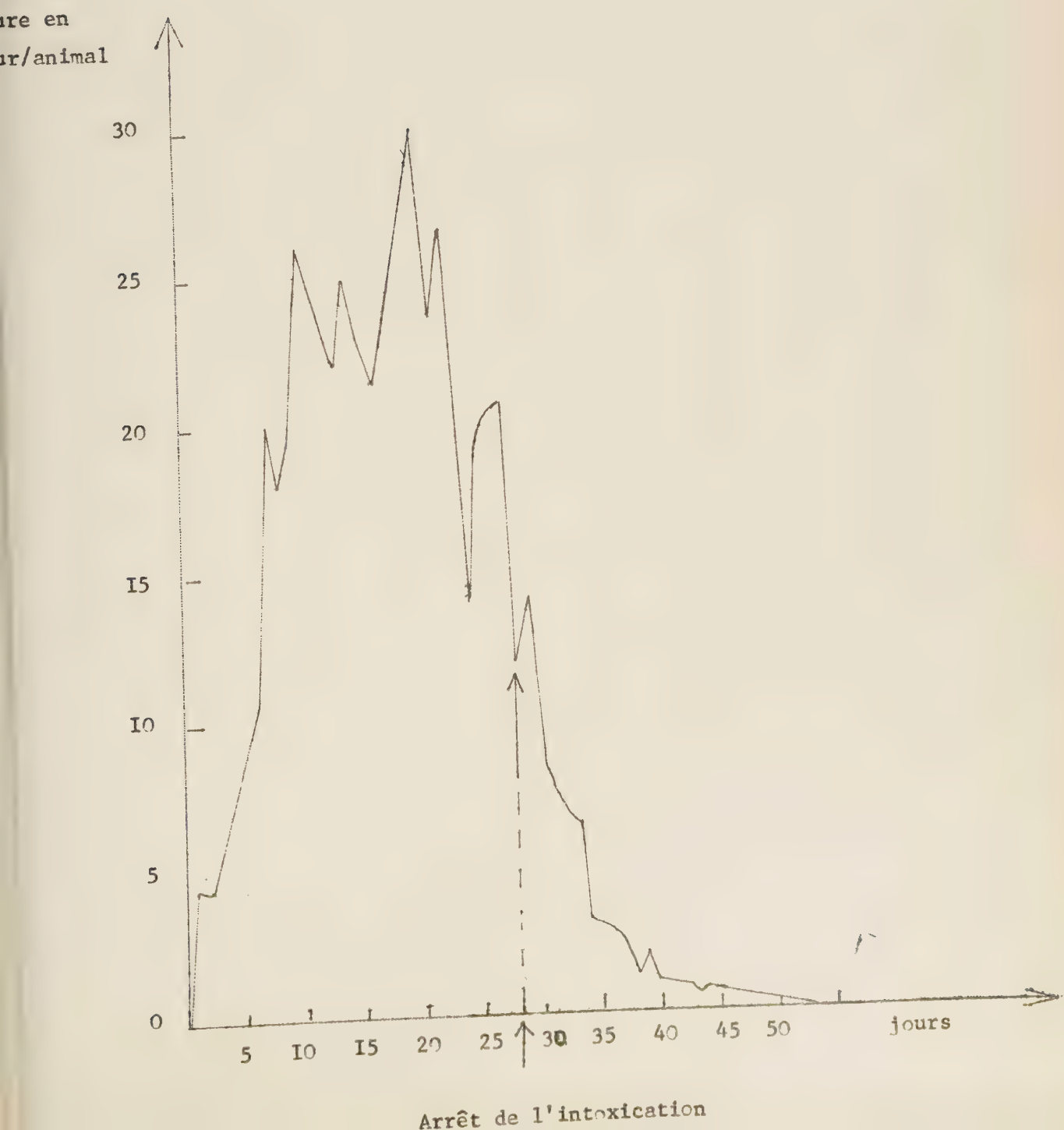




TABLEAU XX

Teneur en mercure de l'urine pendant l'intoxication journalière

Durée de l'intoxication	Quantité de mercure admi- nistrée (γ/ animal/jour)	Quantité d'uri- ne recueillie (cc/animal/ jour)	Excrétion urinaire	
			Mercure en γ totalité/jour/ animal	% de la quan- tité adminis- trée
I	145,5	6,4	4,48	3,08
2		8,6	4,30	2,95
3		9,6	5,76	3,96
4		9,2	7,20	4,95
5		8,8	8,80	6,04
6		8,4	10,50	7,22
7		6,2	20,15	13,85
8		6	18,00	12,40
9		7,2	19,45	13,40
10		9,6	25,92	17,80
11		9	24,80	17,05
12		8,8	23,40	16,08
13		6	22,20	15,26
14		6,6	25,08	17,24
15		9	23,00	15,81
16		7,2	21,60	14,85
17		7	23,80	16,36
18		8,8	25,80	17,73
19		8,4	28,00	19,24
20		6	30,00	20,62
21		5,4	23,76	16,33
22		7,6	26,60	18,30
23		8,6	22,60	15,53
24		5,6	14,00	9,62
25		6,2	19,85	13,64
26		7,8	20,40	14,02
27		5,6	20,72	14,24
28		6	12,00	8,25



TABLEAU XXI

Teneur au mercure de l'urine après cessation de l'intoxication

Nombre de jours après la cessa- tion de l'in- toxication	Quantité d'uri- ne recueillie (cc/animal/jour)	Excrétion uri- naire:mercure en γ /totalité/ jour/animal
I	6,8	12,92
2	7	9,45
3	6,4	7,70
4	6	7,00
5	5,4	6,50
6	6,4	3,20
7	6	3,00
8	7,4	2,96
9	5,8	2,52
10	4,8	1,44
11	6,6	1,98
12	5	1,00
13	4,2	0,84
14	4,2	0,84
15	4	0,60
16	5,8	0,78
17	-	-
18	-	-
19	-	-
20	6	0,60
21	-	-
22	-	-
23	-	-
24	-	-
25	10	0

TABLEAU XXII

Composé	Dose / animal	Excrétion urinaire (γ /animal/semaine)						Auteurs
		I	2	3	4	5	6	
Acétate de phényl- mercure	3 fois 0,15 mg Hg/semai- ne ($\approx$ 0,5 mg Hg/kg/ jour	44 10%	89 20%	85 19%	99 22%	106 23,5%	102 22,5%	GAGE (27)
Méthyl- mercure dicyandia- mide	-	6 1,3%	10 2,2%	22 5%	30 6,6%	41 9%	42 9%	GAGE (27)
Phényl- mercure hydroxyde	0,1 mg Hg/ kg/jour	19 8,7%	49,9 23,8%	106 68%				ULFVARSON (10)
Méthyl- mercure dicyandia- mide	-	1 0,50%	2 0,82%	10 5,30%				-
Méthoxy- éthyl-mer- cure hydro- xyde	-	17,7 7,8%	73,6 36,6%	124 47%				
Méthoxy- éthyl- mercure silicate	0,5 mg Hg/ kg/jour	61,2 6%	159 15,6%	176 17,3%	136 12,5%			CASANOVA

2°) - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication

Cette étude reprend en partie les données expérimentales que nous venons de décrire précédemment pour la dose de 0,5 mg Hg/kg/jour. Elle a été conduite à la dose de 10 mg Hg/kg/jour dans des conditions identiques, avec des animaux mâles et femelles. Nous avons fait nos observations sur une période de 25 jours.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau XXIII et sont traduits par la figure n° 15.

Nous constatons que le taux d'excrétion se stabilise plus rapidement à la dose de 10 mg Hg/kg/jour : il atteint en trois jours un taux moyen de 7,5 % environ de la quantité de mercure administrée. A la dose de 0,5 mg Hg/kg/jour, il augmente progressivement pour atteindre vers le 7ème jour une valeur moyenne nettement plus élevée et qui représente environ 14,5 % de la quantité de mercure absorbée journalièrement. Cette valeur étant identique à celle observée vers le 25ème jour. A la dose de 10 mg Hg/kg/jour, il faut attendre les 24ème et 25ème jours pour atteindre cette valeur.

On note alors que vers le 25ème jour de l'intoxication, les taux moyens d'excrétion urinaire sont assez voisins quelle que soit la dose administrée.

3°) - Etude de l'importance respective de l'excrétion urinaire et fécale

Cette étude a été réalisée avec le silicate de méthoxy-éthylmercure pendant une période limitée, à la dose de 10 mg Hg/kg/jour.

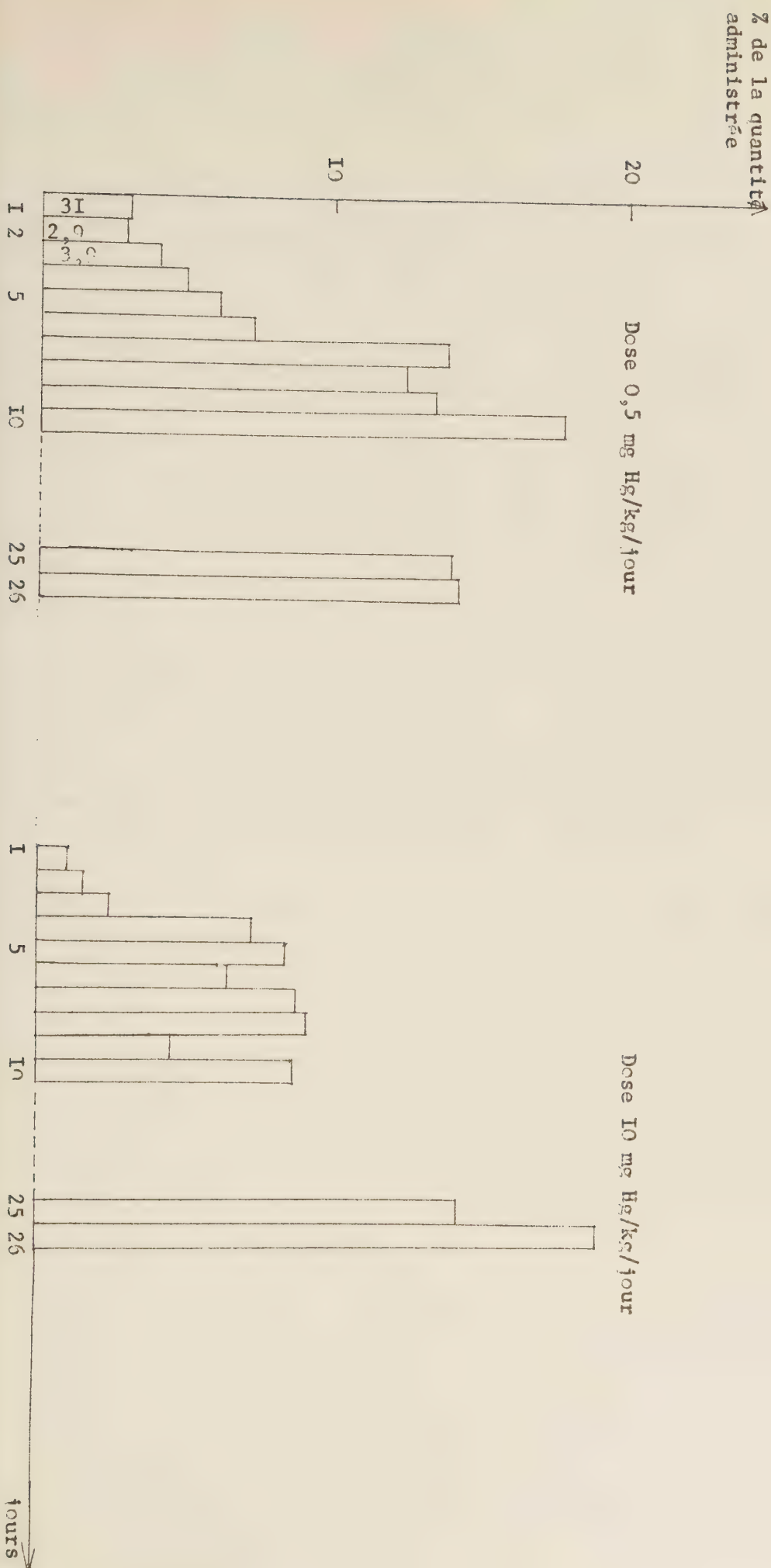
Notre choix s'est porté sur cette dose à la suite de nos essais sur la toxicité de ce composé.

TABLEAU XXIII

Taux d'excrétion urinaire en fonction de la dose administrée

Durée de l'intoxication	0,5 mg Hg/kg/jour			10 mg Hg/kg/jour		
	Quantité adminis- trée γ/animal/ jour	Excrétion urinaire		Quantité adminis- trée γ/animal/ jour	Excrétion urinaire	
		Total γ/ animal/ jour	% de la dose ad- ministrée		Total γ/ animal/ jour	% de la dose ad- ministrée
1	145,5	4,50	3,10	1 830	18,20	1
2		4,30	2,95	1 830	20,25	1,60
3		5,76	3,96	1 830	46,50	2,54
4		7,20	4,95	1 833	132,85	7,25
5		8,80	6,04	1 833	153,14	8,35
6		10,50	7,22	1 651	107,70	6,52
7		20,15	13,85	1 651	145,00	8,80
8		18,00	12,40	1 651	150,15	9,10
9		19,44	13,40	1 651	76,03	4,60
10		25,90	17,80	1 651	145,20	8,30
25		20,4	14,02	1 814	260	14,33
26		20,7	14,23		344	19

FIGURE N° 15. - Taux d'excrétion urinaire en fonction de la dose journalière



En effet, nous avons pu établir que les DL 50 du silicate de méthoxy-éthyl-mercure étaient :

DL 50 rat blanc mâle	=	16,10 mg Hg/kg
DL 50 rat blanc femelle	=	24,55 mg Hg/kg

Lors de nos essais de toxicité à court terme, nous avons pu établir qu'à la dose de 10 mg Hg/kg/jour, les animaux des deux sexes survivaient à cette intoxication au minimum durant 4 mois.

Il était donc important de connaître l'élimination du mercure par les fèces et l'urine afin de connaître la dose effectivement retenue par l'organisme et capable de produire les effets nocifs.

La nette différence de sensibilité durant l'intoxication à court terme pour cette dose chez le mâle et la femelle nous a engagé à mener nos essais séparément sur les animaux de chaque sexe.

Les résultats analytiques sont rassemblés dans le tableau XXIV et sont traduits par les figures I6 et I7.

Nous observons que durant les premiers jours de l'intoxication l'excrétion urinaire et fécale augmente très rapidement et chez le mâle elle dépasse les 70 % de la quantité absorbée quotidiennement à la fin des dix premiers jours d'expérimentation ; chez les femelles elle est légèrement inférieure. Après 25 jours d'intoxication, l'excrétion urinaire et fécale varie entre 70 et 80 % de la dose administrée aussi bien chez le mâle que chez la femelle.

GAGE (27) et ULFVARSON (10) ont également constaté que l'excrétion fécale était importante.

Ainsi GAGE avec l'acétate de phényl-mercure à un taux d'excrétion constant durant les six semaines de son expérimentation et ce taux est de l'ordre de 36 % de la quantité de mercure administrée.

TABLEAU XXIV

Teneur en mercure de l'urine et des fèces

Durée de l'expé- rimenta- tion	Urine (x)				Fèces (x)				Quantité administrée	
	Mâle		Femelle		Mâle		Femelle		Mâle	Femelle
	γ / animal	%	γ / animal	%	γ / animal	%	γ / animal	%	γ / animal	γ / animal
1	17,25	0,90	19,12	1,08	250,00	13,00	107,62	6,08	1912,5	1770
2	27,25	1,42	31,25	1,76	283,25	15,00	320,00	18,10	1912,5	1770
3	56,25	2,94	36,75	2,08	522,23	27,30	328,50	18,56	1912,5	1770
4	174,00	9,10	78,00	4,52	286,00	15,00	163,70	9,50	1912,5	1727
5	226,75	11,85	55,00	3,20	532,25	21,00	714,70	41,40	1912,5	1727
6	147,25	8,37	55,00	3,65	444,25	25,25	126,80	8,40	1760	1507
7	175,00	9,94	105,00	6,97	625,00	35,50	514,00	34,10	1760	1507
8	194,00	11,00	91,70	6,08	1013,25	57,60	283,80	18,83	1760	1507
9	95,00	5,40	50,75	3,37	360,90	20,50	618,20	41,00	1760	1507
10	196,00	11,14	78,75	5,23	990,00	56,25	796,70	52,90	1760	1507
Moyenne	130,90	7,13	60,13	3,49	530,72	29,00	397,40	23,40	1836,25	1629,9
25	266,00	14,30	252,00	14,40	283,10	69	1034,70	59,10	1862,5	1750
26	375,00	20,13	302,50	17,30	945,00	50,8	1110,00	63,45	1862,5	1750
Moyenne	320,50	17,21	277,25	15,85	1114,05	59,9	1072,35	61,30	1862,5	1750

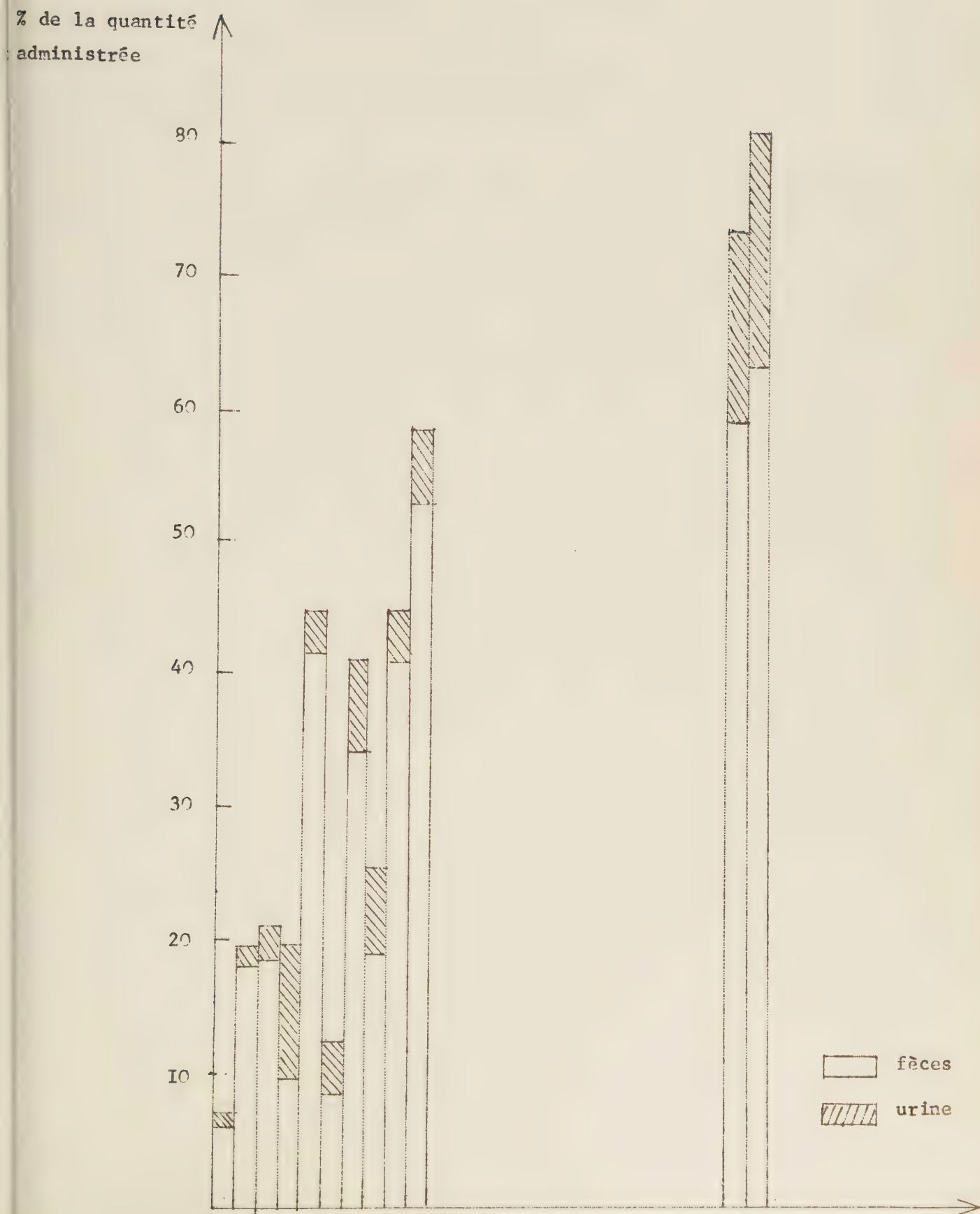
(x) - γ/animal/24 heures

FIGURE N° 16. - Teneur en mercure de l'urine et des fèces
chez le rat mâle

de la quantité
administrée



FIGURE N° 17. - Teneur en mercure de l'urine et des fèces chez le rat femelle



ULFVARSON, au contraire, constate une augmentation du taux d'excrétion au cours de ses essais. Ce taux peut passer en trois semaines avec les dérivés du méthoxyéthylmercure de 18 à 128 % et avec les dérivés du phénylmercure de 31 à 200 % de la quantité de mercure administrée.

On peut donc constater que seul un faible pourcentage de la quantité administrée est retenu par l'organisme. Cela permettrait de mieux comprendre qu'une dose aussi importante que 10 mg Hg/kg/jour ait permis une assez longue survie des animaux expérimentés.

IV - SUR LA PRESENCE DE MERCURE DANS QUELQUES ANIMAUX SAUVAGES ET SUR SA SIGNIFICATION TOXICOLOGIQUE

Au cours de ces vingt dernières années, il a été observé des mortalités importantes de pigeons, perdrix, faisans et autres oiseaux sauvages aussi bien en Grande Bretagne, qu'en Suède, en France. Ces accidents ont alors été attribués à la consommation de semences de céréales traitées : semences qui sont le plus souvent soumises à un traitement avec des formulations mixtes fongicides-insecticides.

Le Laboratoire de Phytopharmacie dans le cadre de l'examen toxicologique des cadavres d'animaux recueillis dans les chasses, a pu constater une augmentation rapide du nombre des cas où l'examen des viscères a permis de mettre en évidence la présence de mercure ou d'un composé chloré.

Les répercussions des traitements de semences sur la faune entrent dans le cadre de cette étude toxicologique sur les composés organomercuriels que nous avons entreprise. L'examen des résultats obtenus au cours des recherches analytiques sur les cadavres de gibier, nous a conduit à essayer de déterminer au cours des intoxications expérimentales, les teneurs en mercure des principaux organes. Les chiffres obtenus, nous permettront peut être de pouvoir préciser à partir de quel niveau de concentration dans les organes, on peut suspecter une intoxication mortelle par les composés organomercuriels.

A - EXAMEN TOXICOLOGIQUE DES CADAVRES DE GIBIER RECUEILLIS EN FRANCE DANS LES CHASSES

I°) - Identification des produits de traitement de semences dans les cadavres de gibier

Cette enquête (qui a débuté en 1956) a été menée en collaboration avec le Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires d'Alfort pour les examens bactériologiques et parasitologiques : ceci afin d'écarter préalablement les animaux dont la mort aurait pu être due à des causes pathologiques.

Les résultats des analyses toxicologiques des cadavres de gibier effectuées de 1956 à 1962 sont résumés dans le tableau n° XXV.

TABEAU XXV

Recherche des produits de traitement de semences dans les cadavres de gibier

Année	Nombre total de cas examinés	Nombre de cas où un pesticide a été mis en évidence	Cas où un produit de traitement de semences a été identifié	
			Nombre	Pourcentage
1956	10	7	0	0
1957	45	28	0	0
1958	30	17	1	3
1959	34	17	6	18
1960	77	33	16	21
1961	138	78	60	44
1962	131	47	31	23
Totaux	465	227	114	

Sur les 114 cas où un produit de traitement de semences a pu être identifié, le mercure a été mis en évidence 77 fois dont 29 fois en association avec un insecticide organochloré ; la présence d'un insecticide organochloré seul a été mise en évidence 37 fois. Les insecticides organochlorés identifiés ont été le lindane, la dieldrine et l'heptachlore.

A cette époque les méthodes pour détecter des composés organochlorés n'étaient pas aussi sensibles qu'actuellement et l'on peut supposer que dans un certain nombre de cas, ils n'ont pu être décelés, tandis que le mercure l'était : en effet, les composés organomercuriels s'emploient rarement seuls en désinfection de semences.

Enfin pour 1961, année où les semailles de printemps ont été particulièrement importantes en raison d'une destruction importante par le gel des semis d'automne, la fréquence des cas de présence d'un produit de traitement de semences est plus grande en mars et avril que dans le reste de l'année (33 % des cas en mars, 32 % en avril). Ces constatations rejoignent celles qui ont été faites en Suède et en Grande Bretagne notamment au printemps de 1956 et de 1957.

2°) - Etude de la teneur en mercure dans les organes de cadavres de gibier

Les résultats analytiques que nous présentons dans le tableau XXVI correspondent aux analyses effectuées au Laboratoire de Phytopharmacie en 1962.

TABLEAU XXVI

*Teneur en mercure des organes provenant de cadavres de gibier
(exprimée en γ/q)*

Organes analysés	Nombre d'animaux examinés	Perdrix	Pigeons	Faisans	Lièvres
Foie	16	0 - 0	0,28 - 0 - 0,05 - 0,02	0,025 - 0 0,01 - 0,03	0 - 0 - 0 0,01 - 0,008-0,009
Reins	1	-	-	-	0,01
Gésier	3	0	0,2 - 0,1	-	-
Jabot	2	0	0	-	-
Foie et jabot	3	0,26 - 0	-	0,08	-
Foie et gésier	2	0,23-0,95	0	-	-

Ces données analytiques ainsi que celles obtenues au cours des années précédentes ne peuvent que nous apporter un indice du niveau de con-

tamination des animaux sauvages par les produits de traitement de semences : elles n'ont pas de valeur statistique, en effet seulement un faible pourcentage des animaux sauvages morts est décelé et parmi ceux-ci seulement une fraction d'entre eux sera collectée et analysée.

Néanmoins on peut constater que les teneurs de mercure des organes examinés sont bien inférieures à celles observées en Suède, en Irlande.

Pour la Suède, BORG et ses collaborateurs (12), ont pu observer en procédant à l'analyse des organes de 253 oiseaux sauvages trouvés morts (teneurs en mercure dans le foie) que 48 % des animaux ont des teneurs en mercure supérieures à 2 mg/kg, 30 % supérieures à 5 mg/kg, 20 % supérieures à 10 mg/kg et 13 % supérieures à 20 mg/kg. Les valeurs obtenues en Irlande par EADES (18) sont également supérieures aux nôtres chez le faisan et le pigeon ; en effet, sur 14 animaux examinés, 36 % des animaux renferment des organomercuriels et les teneurs varient entre 0,015 et 5,33 ppm dans le muscle du bréchet. Pour pouvoir comparer les résultats de EADES avec les nôtres et ceux de BORG, il faut cependant rappeler, à la suite de TJEINING (35) et de SWART et LLOYD (77), que le muscle du bréchet contient 25 à 38 fois moins de mercure que le foie.

B - RECHERCHES EXPERIMENTALES

1°) - Détermination des quantités de mercure contenues dans les viscères après ingestion unique ayant entraîné la mort

Cette étude a été menée simultanément avec trois composés organomercuriques appartenant à chacun des principaux groupes de dérivés :

- composés de l'alcovle-mercure : dicyandiamide de méthylmercure
- composés de l'alcolky-alcovle-mercure : silicate de méthoxyéthyl-mercure
- composés d'aryle-mercure : acétate de phénylmercure

Les animaux expérimentés sont des faisans et des coqs nains adultes (hybrides mal définis). Ils sont placés dans des volières en plein air par groupe de quinze environ, et ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

Les animaux sont capturés le matin, ils ont eu la possibilité d'absorber déjà quelque nourriture. On leur administre de force le composé organomercurique sous forme de poudre incluse dans une capsule de gélatine. On les remet aussitôt après en volière.

Les doses administrées aux animaux ont été choisies en se référant aux travaux de GROLLEAU (33).

Lorsque la mort intervient, le foie, les reins, et le cerveau sont prélevés aux fins d'analyse.

Les teneurs en mercure obtenues sont rassemblées dans le tableau XXVII.

2°) - Détermination des quantités de mercure contenues dans les viscères après administration répétée de petites doses de silicate de méthoxyéthyl-mercure

Les semences traitées demeurent à la disposition du gibier durant un certain laps de temps, qui peut être variable ; estimé à trois jours environ en France, il peut être de 1 à 11 jours au printemps et de 5 à 29 jours à l'automne d'après MURTON et VIZOSO (59) en Grande Bretagne. Il nous est donc apparu intéressant de compléter les essais précédents par des déterminations du mercure après administration répétée du composé organomercurial.

Les expériences portent sur 5 perdrix prises. Les animaux sont placés dans des volières en plein air et ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

Après les avoir capturés le matin, on leur administre 1,5 mg Hg/kg/jour ; cela durant 10 jours.

Ils sont sacrifiés le onzième jour. Les teneurs en mercure sont déterminées dans les principaux organes, sur un échantillon moyen d'organes homologues.

TABLEAU XXVII

*Teneur en mercure des principaux organes après ingestion
unique ayant entraîné la mort*

Composé	Animal	Sexe	Dose administrée mg/kg	Délai de mortalité (jours)	Hg en γ /g viscères		
					Foie	Reins	Cerveau
Silicate de méthoxyéthyl mercure	Faisan	femelle	5	35	0	0	5
		mâle	10	4	15	240	3,5
		mâle	15	1	25	200	15
		mâle	25	3	-	64	3,5
		femelle	30	1	18,75 (x)	260 (x)	2 (x)
		mâle	30	1			
Dicyandia- mide de méthylmer- cure	Coq nain	femelle	10	1	6	54	12,5
		mâle	20	8	7,8 (x)	133 (x)	35 (x)
		mâle	20	12			
		mâle	30	12	66	181	24
		mâle	40	5	66	409	20
		mâle	50	1	36,6 (x)	145 (x)	42,5 (x)
		mâle	50	5			
Acétate de phénylmer- cure	Coq nain	mâle	230	42	1,7	2,27	1
		mâle	240	1	-	-	30
		mâle	240	2	-	-	
		mâle	260	2	-	-	27,5
		mâle	260	4	-	-	
		mâle	270	2	30	430	7
		mâle	280	2			
		mâle	280	4	6,2	216	6,75
		mâle	290	4	46,6	-	20

(x) - L'analyse a été réalisée sur un échantillon moyen de viscères des
deux animaux.

Les teneurs en mercure observées sont rassemblées dans le tableau suivant :

TABEAU XXVIII

Teneur en mercure des principaux organes chez la perdrix
(γ de Hg/g d'organes frais)

Hypophyse	Thyroïde	Surrénales	Pancréas	Cerveau	Râte	Foie	Reins
0	0	0	0,6	0	0	2,7	43

Nous observons une localisation nette du toxique dans le foie et les reins ; localisation observée également lors de notre étude de toxicité après administration répétée de petites doses chez le rat.

C - INTERPRETATION DES RESULTATS

Après ingestion unique de composé organomercuriel, on peut constater que la teneur en mercure dans les tissus au moment de la mort, varie dans des proportions assez grandes, pouvant aller de 6 à 66 ppm dans le foie et de 54 à 430 ppm dans les reins lorsque les délais de mortalité sont rapides.

L'intoxication chez la perdrix durant 10 jours à plus faibles doses, les animaux ayant survécu au moins jusqu'à leur sacrifice, conduit à des teneurs inférieures aux précédentes, mais notables toutefois dans les reins.

Un certain nombre de chercheurs ont par ailleurs étudié l'influence de la consommation de semences traitées sur la durée de vie des animaux : ils ont également procédé à la détermination des teneurs en mercure des principaux organes.

Ainsi BORG (12) constate que l'alimentation avec des semences traitées à la dicyandiamide de méthylmercure et renfermant 15 à 20 mg Hg/kg provoque la mort des animaux d'expérience dans des délais de 29 à 31 jours pour les faisans et 26 à 38 jours pour les choucass ; les teneurs en mercure étant au moment de la mort, pour un mélange de foie et reins, de 30 à 130 mg/kg pour les faisans et de 70 à 115 mg/kg pour les choucass.

SMART et LLOYD (77) expérimentent avec des semences traitées à la dicyandiamide de méthylmercure et renfermant une teneur plus faible en mercure (6 mg Hg/kg) que précédemment. Ces semences entrent à raison de 50 à 75 % dans le régime administré à des volailles. Ils observent une survie d'au moins 4 à 8 semaines (date à laquelle ils ont sacrifié les animaux) ; la teneur en mercure dans le foie varie entre 8,1 et 24,1 mg/kg.

TJEINING (85) administre des grains traités à la dicyandiamide de méthylmercure à des volailles pendant une durée pouvant varier de 15 à 88 jours. Les grains ont des teneurs de 4,4 - 9 - 18 ppm de méthylmercure et entrent pour moitié dans l'alimentation offerte journellement aux volailles. Il constate que les teneurs en mercure des organes augmentent avec les teneurs en mercure dans les grains et avec la durée de l'alimentation ; ainsi après 40 jours d'intoxication les teneurs dans le foie sont respectivement selon la teneur des grains de 16,8 - 21,3 - 59 ppm et dans les reins de 13,1 - 18,2 - 48 ppm.

Toutes ces données expérimentales, nous permettent de constater qu'il est assez difficile d'établir un niveau de concentration en mercure dans les organes pouvant indiquer un empoisonnement aux composés organomercuriels ayant entraîné la mort.

Cependant les valeurs minima obtenues expérimentalement sont bien supérieures aux valeurs retrouvées dans les cadavres d'animaux examinés en France de 1956 à 1962.

Avec ces données expérimentales il faut aussi tenir compte des études de toxicité réalisées par GIBAN (30) et GROLLEAU (33) sur les gallinacées-gibier après ingestion unique ou triple aussi bien avec les fongicides organomercuriels qu'avec les principaux insecticides organochlorés utilisés en traitement de semences. L'ensemble de ces travaux peut nous permettre de penser que les accidents constatés sur les oiseaux granivores à la suite de consommation de semences traitées ne peuvent être imputés (au moins en ce qui concerne les animaux examinés en France de 1956 à 1962) aux organomercuriels.

Les insecticides organochlorés présents également à la surface des semences pourraient avoir essentiellement la responsabilité de ces accidents.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre travail consacré à l'étude de la toxicologie biologique et analytique des dérivés organiques du mercure utilisés comme fongicides en agriculture (avec une attention particulière au silicate de méthoxyéthylmercure), comporte trois parties principales :

Dans une première partie, nous avons rappelé les différentes étapes de la mise au point des composés organomercuriels et de leur utilisation comme fongicides dans l'agriculture et l'industrie. Nous avons également présenté un résumé de la toxicologie générale du mercure et de ses dérivés.

Dans une deuxième partie, nous avons procédé à un examen critique des différentes techniques analytiques de dosage du mercure sous forme minérale et sous forme organique. Nous avons décrit les méthodes utilisées dans notre travail pour le dosage du mercure élément ; ces méthodes mises au point par FABRE, TRUHAUT et BOUDENE sont basées sur la formation d'un complexe coloré avec la di- β -naphtyl-thiocarbazone après minéralisation du matériel biologique, séparation du mercure et entraînement à la vapeur de ce dernier.

Dans une troisième partie, de très loin la plus importante, se trouvent exposés les résultats de nos recherches concernant l'étude de la toxicologie du silicate de méthoxyéthylmercure.

Nous avons conformément à la séquence classique commencée par l'étude de la toxicité aiguë du silicate de méthoxyéthylmercure. Nous avons déterminé la DL 50 de ce composé administré par voie orale chez le rat mâle et le rat femelle ; nous avons établi cette DL 50 sur un temps d'observation assez

long. Dans ces conditions, les mortalités les plus importantes se situent vers les quatrième et cinquième jours. On a pu constater que le rat mâle est nettement plus sensible que le rat femelle.

- Nous avons ensuite procédé à l'étude de la toxicité à court terme ou plus précisément semi-chronique (puisque nous avons prolongé la durée de notre expérimentation jusqu'à cinq mois chez le rat) du silicate de méthoxyéthylmercure. Nous avons opéré avec différentes doses du composé organomercurel et nous avons étudié les effets de ce composé sur la courbe pondérale, la fécondité, la formule sanguine, les caractéristiques histologiques des principaux organes.

. Nous avons pu établir que le silicate de méthoxyéthylmercure provoque un retard de croissance chez les animaux soumis à l'intoxication, ce retard étant nettement plus accusé pour les doses les plus élevées. Nous avons noté comme précédemment que les animaux mâles sont plus sensibles que les femelles, aussi bien en ce qui concerne le retard de croissance que le taux de mortalité.

. L'étude des effets du silicate de méthoxyéthylmercure sur les fonctions de la reproduction n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative entre les animaux témoins et les animaux intoxiqués dans le cas des doses faibles qui ont fait l'objet de cette recherche.

. Les études sur la modification de la formule sanguine ont été réalisées avec les doses élevées de silicate de méthoxyéthylmercure en cours et en fin d'expérimentation chez les rats mâles et femelles : aucune différence apparente n'a pu être mise en évidence.

. L'examen histologique des principaux organes nous a montré que c'est seulement au niveau de l'intestin et du rein que des lésions se sont manifestées. A l'autopsie, le gros intestin apparaît nécrosé aux doses les plus élevées chez la plupart des animaux mâles ; cette ulcération se retrouve seulement chez quelques femelles. L'examen histologique du rein a fait apparaître des lésions plus accusées aux doses les plus élevées de silicate de méthoxyéthylmercure : ces lésions se sont traduites essentielle-

ment par des foyers plus ou moins accusés de sclérose interstitielle et par l'altération de l'épithélium des tubes urinaires.

. Parallèlement à ces études histologiques, nous avons examiné le retentissement éventuel de l'atteinte rénale sur les fonctions d'épuration, ce qui nous a conduit à examiner la composition du sang et de l'urine. En ce qui concerne la recherche de l'albumine dans l'urine, nos observations ont été limitées car l'urine des animaux témoins renfermait de l'albumine. En revanche en ce qui concerne la détermination de l'urée dans le sang, nous avons pu constater qu'aux doses élevées, son taux commence à augmenter nettement après vingt jours d'intoxication, atteignant chez certains animaux des valeurs qui peuvent entraîner la mort par urémie.

- Sur le plan analytique, disposant par nos études critiques d'une méthode de dosage chimique adéquate, nous avons procédé à l'étude de la répartition du mercure dans l'organisme et de son élimination au cours des intoxications à court terme chez le rat.

. Ces études ont montré que les organes qui retiennent le plus de mercure sont le foie et le rein. Nous avons pu constater que la teneur dans le foie varie légèrement en fonction de la durée de l'expérimentation et de la dose administrée. Dans les conditions de nos expériences comportant l'administration de doses relativement élevées nous n'avons pu aboutir à des conclusions significatives en ce qui concerne le tissu rénal.

. Au cours de l'étude de l'excrétion urinaire du silicate de méthoxyéthylmercure, nous avons constaté qu'après un accroissement rapide de l'excrétion du mercure au cours de la première semaine d'expérimentation, la quantité de mercure excrétée varie peu durant les semaines suivantes. L'excrétion urinaire de mercure représente toujours le même pourcentage de la dose administrée ; cela quelle que soit la quantité de mercure reçue quotidiennement par les animaux.

. Nous avons également procédé à l'étude de l'importance respective des excrétions urinaire et fécale et cela pour des doses élevées en toxique. Nous avons pu à ces doses, nous rendre compte que très rapidement

les taux d'excrétions urinaire et fécale atteignent 70 à 80 % de la dose administrée quotidiennement aussi bien chez le mâle que chez la femelle.

Les résultats obtenus au cours de nos expériences sur l'intoxication semi chronique du rat par le silicate de méthoxyéthylmercure nous amènent à souligner la similitude de comportement de ce composé avec l'acétate de phénylmercure ; en effet FITZHUGH et col. dans une étude sur ce composé (mais qui portait sur un temps d'expérimentation plus long) avaient abouti à des observations qui convergent, pour l'essentiel, avec celles que nous avons pu obtenir pour le silicate de méthoxyéthylmercure.

Il nous paraît important de souligner que le récent Symposium de Stockholm ^(x) a classé dans le même groupe en ce qui concerne le degré de potentialité toxique, les dérivés du méthoxyéthylmercure et du phénylmercure.

Ce même Symposium a souligné les dangers beaucoup plus grands des dérivés alcoyles du mercure et notamment du méthylmercure en raison de leur neurotoxicité très marquée et de la sensibilité des embryons.

Il aurait été par suite, intéressant de dresser un tableau mettant en lumière de façon comparative les différentes formes de toxicité des dérivés du méthylmercure et du silicate de méthoxyéthylmercure. Les informations à notre disposition n'étaient pas suffisamment précises pour nous permettre d'établir un tel tableau. Nous pouvons seulement indiquer que (en conformité d'ailleurs avec les conclusions présentées à Stockholm sur la base de données expérimentales sur les animaux de laboratoire et des observations épidémiologiques sur des sujets humains exposés), le silicate de méthoxyéthylmercure est beaucoup moins dangereux que les dérivés du méthylmercure.

(x) - Symposium de Stockholm (1968) : "Recommendations on maximum allowable concentrations of mercury and its compounds : report of an International Committee"

- Le Silicate de méthoxyéthylmercure étant largement utilisé en agriculture pour le traitement des semences, il nous a semblé intéressant d'achever notre travail en donnant un bref aperçu sur la contamination des animaux sauvages et sur la signification toxicologique des résidus retrouvés chez les animaux.

Une enquête réalisée en France de 1956 à 1962 et portant sur l'identification des produits de traitements de semences dans les cadavres de gibier laisse apparaître un niveau de résidus en mercure relativement bas.

Les teneurs en mercure dans les principaux organes, obtenues au cours d'intoxications expérimentales de gallinacées-gibier ont des valeurs minima qui sont bien supérieures à celles des cadavres examinés ; nous avons par conséquent été amenée à penser que, au moins en ce qui concerne les cadavres examinés, les organomercuriques ne peuvent être rendus responsables de la mortalité de ces animaux.

Tels sont les résultats d'ensemble que nous avons obtenus au cours de nos expérimentations avec le silicate de méthoxyéthylmercure. Sans prétendre avoir épuisé le sujet nous pensons qu'ils apporteront des précisions utiles sur la toxicité de ce fongicide organomercuriel.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ABBOTT D.C. and JOHNSON E.I. The determination of traces of mercury in apples - Analyst. 1957 - 82, 206 - 208
- 2 - ARNOUX M. Traitements des semences de plantes maraichères - Phytiatrie Phytopharmacie 1962, II, 41-53
- 3 - ARTHURINGTON W. and HULME A.C. The estimation of mercury in the peel of apples - Analyst. 1951, 76, 211-215
- 4 - BALLARD A.E. and THORNTON C.D.W. Photometric method for estimation of minute amounts of mercury - Ind. and Eng. Chemistry, 1941, 13, 993-997
- 5 - BARNES H. The determination of mercury by means of dithizone - Analyst. 1947, 72, 469-472.
- 6 - BARRET F.R. Microdetermination of mercury in biological materials - Analyst. 1956, 81, 204-208
- 7 - BEIDAS A.S. and HIGGONS D.J. Mercury residues in sprayed crops - I - Tomatoes - The Journal of Science Food Agric. 1957, 8, 597-600
- 8 - BETCK B. Measurement of metal traces in fungicides residue research : a rapid method of measuring mercury residues of treated seed - Pesticide Progress., 1963, I, 75

- 9 - BERTON A. Dosage spectrographique de traces de mercure par la raie d'absorption 2536 Å dans l'ultra-violet - CP Academie des Sciences 1945, 464-465
- 10 - BETHGE P.O. Analy. Chim. Acta, 1954, 10, 317
- 11 - BOLLEY H.L. Dakota Agric. Expt. Sta. Bull., 1893-9
- 12 - BORG K., WANNTORP H., ERNE K. and HANKO E. Alkyl mercury poisoning in terrestrial swedish wildlife - Viltrevy Swedish wildlife, 1969, 4, 301-379
- 13 - CAERUNY A. A rapid determination of mercury in urine and kidney - J. Lab. Clin. Med. 1961, 57, 463-472
- 14 - Chemical and Engineering News, 1970, 22, 36-37 Mercury stirs more pollution concern
- 15 - CHOLAK J. and HUBBARD D.M. Microdetermination of mercury in biological material - Ind. and Eng. Chemistry Anal. Ed., 1946, 18, 149-151
- 16 - CHRISTELL R.L.G., LJUNGGREN K., SJOSTRAND B. and WESTERMARK T. Method of activation analysis for mercury in the biosphere and in foods - Proc. Intern. Conf. on modern trends in activ. Analysis Dallas - Texas, 1965
- 17 - DARPOUX H. et PONCHET J. Contrôle de l'état sanitaire et désinfection des semences. Etudes réalisées en France - Proceedings of the International Seed testing association, 1957, 22, n° 1, Copenhagen
- 18 - EADES J.F. Pesticide residues in the Irish Environment - Nature, 1966 210, 650-652
- 19 - FABRE R. et TRUHAUT P. Toxicologie des produits phytopharmaceutiques - Ed. Sedès - Paris, 1954

- 20 - FABRE R., TRUHAUT R. et BOUDENE C. Microdosage du mercure dans les milieux biologiques - CR de l'Academie des Sciences, 1958, 246, 2086-2090
- 21 - FABRE R., TRUHAUT R. et BOUDENE C. Microdosage du mercure dans l'urine - Annal. Biol. Clin., 1958, 16, 286-298
- 22 - FABRE R., TRUHAUT R. et REGNIER M.T. Traitement d'urgence des intoxications - Ed. G.DOIN - Paris, 1957
- 23 - FABRE R., TRUHAUT R. et VIEL G. Considérations générales sur la toxicologie des produits phytopharmaceutiques (pesticides) - Annales des Epiphyties, 1954, 2, 177-198
- 24 - FITZHUGH O.C., NELSON A.A., LAUG E.P. and KUNZE F.M. Chronic oral toxicities of mercuri-phenyl and mercuric salts - Arch. Ind. Hyg. 1950, 2, 433-442
- 25 - FLEURY P. et EBERHARD R. Dosage direct de l'urée sanguine par l'uréase et la réaction phénol-hypochlorite de Berthelot - Annal. Pharma. Franç., 1958, 16, 465-482
- 26 - FRIEDEBERG H. Separation and determination of microgram quantities of silver, mercury and copper with dithizone - Anal. Chem., 1955, 27, 305-306
- 27 - GAGE J.C. Distribution and excretion of methyl and phenyl mercuric salts Brit. J. Ind. Med. 1964, 21, 197-202
- 28 - GAGE J.C. The trace determination of phenyl and methyl-mercury salts in biological material - The Analyst. 1961, 86, 457-459
- 29 - GIBAN J. Toxicité d'ingestion du chlorure mercurique et de deux produits fongicides à base de méthoxyéthylmercure - Ann. Epiphyties, 1953 4, I-II

- 30 - GIBAN J. Evaluation du risque théorique d'accident pouvant résulter pour les gallinacées-gibier de la consommation de semences traitées - Phytiatrie-Phytopharmacie, 1965, 14, 59-65
- 31 - GOLDBERG A.A., SHAPERO M. and WILDER E. Antibacterial colloidal electrolytes : The potentiation of the activities of mercuric - phenyl mercuric and silver ions by a colloidal sulphonic anion - J. Pharm. (London), 1950, 2, 20-26
- 32 - GRAHAM E.J. The renal tubule (nephron) as affected by mercury - Am. J. Pathol., 1942, 18, 1011-1027
- 33 - GROLLEAU G. Toxicité des produits de traitements des semences à l'égard des gallinacées-gibier - Ann. Epiphyties, 1965, 16, 129-143
- 34 - GUILLEMAT J. et LAMBERT J. Action du traitement aux organomercuriques de la teneur en eau et de la durée du stockage sur la faculté germinative des semences de blé - Phytiatrie-Phytopharmacie, 1960 9, 63-74
- 35 - GUTENMAN W.H. and LISK D.J. Rapid determ. of mercury in apples by modified schöniger combustion - J. Agric. Food. Chem., 1960, 8, 306-308
- 36 - HELL G. and SCHMIDT Cité par VON HEIMBURG A.W. und SCHMIDT L. Experimenteller beitrag zur klärung der verschiedenen widerstandskraft männlicher und weiblicher ratten gegen die chronische quecksilber vergiftung - Arzneimittel Forsh 1959, 9, 321-324
- 37 - HESSE E. Versuche zur therapie der quecksilbervergiftung. II mitteilung : die parentale Hg vergiftung - Arch. Exp. Path. Pharmacol. 1926, 117, 266-278
- 38 - HILTNER L. Prak Blätter f. Pflanzenbau-u-Pflanzenesch, 1915, 18, 65-124

- 39 - HUBBARD D.M. Determination of mercury in urine. A photometric method using a new reagent, di- β -naphthyl-thiocarbazone - Ind. and Eng. Chem. Anal., 1940, 12, 768-771
- 40 - IRVING H., ANDREW G. and RISON E.J. Studies with dithizone. The determination of traces of mercury - J. Chem. Soc. of London, 1949, I, 541-547
- 41 - JACOBS M.R., GOLDWATER S. and GILBERT J. Ultramicrodetermination of mercury in blood - Amer. Ind. Hyg. Assoc. J., 1961, 22, 276-279
- 42 - JENSEN S. and JERNELOV A. Biological methylation of mercury in Aquatic Organisms - Nature, 1969, 223, 753-754
- 43 - JONES L. and SCHWARTZMAN G. Determination of mercury in pink wheat - J. of the A.O.A.C., 1963, 46, 879-881
- 44 - JUILLET A. Semences et anti-caries organomercuriels - Phytoma - Défense des cultures, 1959, 113, 13-19 et 1960, 114, 15-18
- 45 - KELLERMAN W.A. and SWINGLE W.T. Preliminary experiments with fungicides for stinking smut of wheat - Kans Agr. Exp. Sta. Bull. 1890, 12
- 46 - KITAMURA S. Application of gas chromatography to the analysis of alkyl-mercury compounds
Part. I : Medicine and biology, 1966, 72, 274-280
- 47 - KLEIN A.D. Report on mercury - J. of the A.O.A.C., 1952, 35, 537-542
- 48 - KUNZE F.M. Addition of selenium to wet-ash procedure for the determination of mercury in apple peel - J. of the A.O.A.C., 1948, 31, 438-441
- 49 - LAUG E.P. and NELSON K.W. Report on mercury - J. of the A.O.A.C., 1942, 25, 399-403

- 50 - LEACH H., EVANS E.C. and CRIMMIN W.C.R. The estimation of mercury in urine using di- β -naphthyl-thiocarbazone - Clin. Chim. Acta, 1951, 1, 80-84.
- 51 - LEHMAN R.A., KING E.E. and TAUBE H. The pharmacology of thiomerin - J. Pharmacol. 1951, 99, 149-162
- 52 - LJUNGGREN K. and WESTERMARK T. Method for the detection of mercury by radioactivation analysis - Pure Applied Chem. 1960, 1, 127-133
- 53 - LUNDGREN K. and SWENSSON A. Occupational poisoning by alkyl mercury compounds - J. Ind. Hyg. and Toxicol., 1949, 31, 190-200
- 54 - MAC CALLAN S.E. and WILCOXON F. Fungicidal action and the periodic system of the elements - Contrib. Boyce Thompson Inst., 1934, 6, 479-500
- 55 - MILLER L.P. and TAINTER H.L. Estimation of the ED 50 and its error by means of logarithmic probit graph paper - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1944, 57, 261-264
- 56 - MILLER V.L., KLAVANO P.H. and CSONKA E. Absorption, distribution and excretion of phenyl-mercuric acetate - Toxic. Appl. Pharmacol., 1960, 2, 344-352
- 57 - MILLER V.L. and WATCHER L.E. Determination of traces of mercury in Copper analysis - Anal. Chem., 1950, 22, 1312-1314
- 58 - MONKMAN J.L., MAFFERT P.A. and DOHERTY T.F. The determination of mercury in air samples and biological material - Amer. Ind. Hyg. Assoc. Quaterly, 1956, 17, 419-420
- 59 - MURTON R.K. and VIZOSO M. Dressed cereal seed as a hazard to wood pigeons - Ann. Appl. Biol., 1963, 52, 503-517
- 60 - OLIVER W.T. and FUNNEL B.A. Quant. determin. of mercury in biological tissues - J. of Veter. res., 1958, 19, 999

- 61 - PAPPAS E.G. and ROSENBERG L.A. Determination of submicrogram quantities of mercury by cold atomic absorption photometry - J. of the AOAC, 1966, 49, 782-792
- 62 - PICKARD J.A. and MARTIN J.T. Determination of mercury in plant material - J. Science Food Agric., 1960, II, 374-377
- 63 - PIEN J. Un nouvel appareil pour la minéralisation par voie humide - Ann. Fals. Fraudes, 1954, 47, 266-272
- 64 - PREUND M. Ber 1891, 24, 4178
- 65 - RAUCOURT M. La question des dépôts toxiques sur les fruits - C.R. Academie d'Agriculture, 1937, 23, 221-227
- 66 - RAUCOURT M., TROUVELOT B. et CASTETS G. Les résidus d'arsenic sur les pommes et les poires traitées contre le Carpocapse - Première partie : essais de 1935 - Annales des Epiphyties, 1938, 4, 337-356
- 67 - RAUCOURT M. Les résidus d'arsenic sur les pommes et les poires traitées contre le Carpocapse - Deuxième partie - Annales des Epiphyties, 1946, 12, 91-105
- 68 - RAYMOND Y. Recherches sur la toxicologie analytique et biologique du nitrate de phényl-mercure - Thèse de Doctorat d'Université de Paris, Mention Pharmacie, 1964
- 69 - REMY and VASTERS Pflanzenschutzmittel Illustr. Landw. Zeitz, 1914, 34, 769-771
- 70 - RIEHM E. Prüfung einiger Mittel zur Bekämpfung des Steinbrandes - Centrab. f. Bakt., 1914, 40, 424
- 71 - ROTH F.J. The estimation of submicrogram quantities of mercury - J. of the AOAC, 1957, 40

- 72 - ROTH G. Contribution à l'étude de l'action des désinfectants mercuriques sur l'état sanitaire des semences et jeunes plantules de différentes plantes cultivées et sur la physiologie des jeunes plantes - Höfchen-briefe, 1950, 2, 53-99
- 73 - SCHÖNIGER W. Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogenen in organischen Substanzen - Mikrochim. Acta, 1955, 123-129
- 74 - SIMONSEN D.G. Determination of mercury in biological materials - Am. J. Clin. Path. 1953, 23, 787-797
- 75 - SJOSTRAND B. Simultaneous determination of mercury and arsenic in biological and organic materials by activation analysis - Anal. Chem., 1964, 36, 814-819
- 76 - SMART N.A. Mercury residues in potatoes following application as a foliar spray containing phenyl-mercury chloride - J. Sc. Food Agric., 1964, 15, 102-108
- 77 - SMART N.A. and LLOYD M.K. Mercury residues in eggs, flesh and livers of hens fed on wheat treated with methyl-mercury dicyandiamide - J. Sc. Food Agric., 1963, 14, 734-740
- 78 - SMITH H. Estimation of mercury in biological material by neutron activation analysis - Anal. Chem., 1963, 35, 635-636
- 79 - SUMINO K. Analysis of organic mercury compounds by gas chromatography Part II - Determination of organic mercury compounds in various samples - Kobe Med. Science, 1963, 14, 131-141
- 80 - SUPRUNOVITCH I.B.J. Gen. Chem. (USSR), 1938, 8, 839-843
- 81 - SWENSSON A. Investigations on the toxicity of some organic mercury compounds which are used as seed disinfectants - Acta Medica Scand., 1952, 143, 365-384

- 82 - SZKOLNIK M., HICKEY K.O., BRODERICK E.J. and LISK D.J. Mercury residues of apple fruits as related to application schedules and to the colorimetric and the neutron activation analysis - Plant disease report., 1965, 49, 568-570
- 83 - TATTON J. and WAGSTAFFE P. Identification and determination of organomercurial fungicide residues by thin-layer and gas chromatography - J. of Chromatography, 1969, 44, 284-289
- 84 - TERAMOTO K., KITABATAKE M., TANABE M. and NOGOCHI Y. J. Chem. Soc. Japan Ind. Chem. Sect., 1967, 70, 1601-1602
- 85 - TJEINING S. Biological effects of methyl-mercury dicyandiamide treated grain in the domestic fowl *Gallus Gallus* L. - OIKOS, 1967, suppl. n° 8
- 86 - TISDALE W.H. and CANNON Barley smut control - Phytopathology, 1926, 153
- 87 - TOMIZAWA C. Residue analysis of pesticides in plant materials. Behaviour of mercury in rice plants treated with organomercury 203 disinfectants - Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 1966, 7, 26
- 88 - TRUHAUT R. Sur les dangers de cancérisation pouvant résulter de la présence de résidus de pesticides dans les aliments - Phytiatrie et Phytopharmacie, 1955, n° Spécial 57-68
- 89 - TRUHAUT R. Sur les risques de novicité pour l'homme liés à l'emploi des toxiques dans le traitement des cultures fruitières et maraîchères - Comptes rendus des Journées Fruitières et maraîchères d'Avignon, 1956, 61-84
- 90 - TRUHAUT R. Sur l'importance des risques de toxicité à long terme pouvant résulter de l'emploi des pesticides - Phytoma, 1958, 10, 9-14
- 91 - TRUHAUT R. Sur les principes généraux à prendre en considération pour l'autorisation d'emploi des additifs alimentaires et pour la limitation des taux résiduels de pesticides dans les aliments - Ann. des Fals. et des Fraudes, 1959, 52, 319-320

- 92 - TRUHAUT R. Problèmes toxicologiques posés par l'emploi des pesticides en agriculture - Bulletin de l'INSEPM, 1966, 21, 1063-1120
- 93 - TRUHAUT R. Aperçus sur les problèmes toxicologiques posés par l'emploi des pesticides en agriculture - Les Actualités Pharmaceutiques, 1970, 59, 20-34
- 94 - TRUHAUT R. et BOUDENE C. Microdosage du mercure dans les milieux biologiques d'origine animale - Bull. Sté Chim. de France, 1959, 1350-1354
- 95 - TRUHAUT R. et BOUDENE C. Microdosage du mercure dans les matières végétales et les denrées alimentaires - Phytiatrie-Phyton pharmacie, 1961, 10, 175-188
- 96 - TRUHAUT R. et BOUDENE C. Microdosage du mercure dans les denrées alimentaires, Ann. Fals. Exp. Chim., 1963, 656-657 - 225-242
- 97 - TRUHAUT R. et VIEL G. Les possibilités de contamination - Des aliments par des produits phytonpharmaceutiques (pesticides) - Bull de la Soc. Scient. d'Hyg. Alim., 1956, 44, 104-131
- 98 - TRUHAUT R. et VIEL G. Sur la prévention des risques de nocivité pouvant provenir de la présence de résidus de pesticides dans les aliments végétaux - Phytiatrie-Phyton pharmacie, 1956, 135-162
- 99 - TRUHAUT R. et VIEL G. Lutte antiparasitaire et toxicité - Bull. Techn. d'Inform., 1962, 167, 3-12
- 100 - ULFVARSON U. Distribution and excretion of some mercury compounds after long term exposure - Int. Archiv. für Gewerbekrankheiten und Gewerbehygiene, 1962, 19, 412-422
- 101 - VALETTE G. Précis de pharmacodynamie - Masson Ed. Paris, 1959

- 102 - WESTÖÖ C. Determination of methylmercury compounds in foodstuffs
I - Methylmercury compounds in fish, identification and determ. -
Acta Chemic. Scand., 1966, 20, 2131-2137

II - Determination of methylmercury in fish, egg, meat and liver
Acta Chem. Scand., 1967, 21, 1790-1800
- 103 - WIEN R. Toxicity of p.chloro-m-cresol and of phenyl-mercuric nitrate
Quart. J. Pharm. Pharmacol., 1939, 12, 212-229
- 104 - WOOD J.M., KENNEDY F., ROSEN C.G. Synthesis of methyl-mercury compounds
by extracts of a methanogenic bacterium - Nature, 1968, 220,
173-174

T A B L E D E S M A T I E R E S

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	I
<u>CHAPITRE I - GENERALITES</u>	6
I - HISTORIQUE	6
II - L'UTILISATION DES COMPOSES ORGANOMERCURIELS DANS L'AGRICULTURE ET L'INDUSTRIE	II
A - L'UTILISATION DES COMPOSES ORGANOMERCURIELS EN AGRICULTURE	II
B - LES ORGANOMERCURIELS DANS L'INDUSTRIE DE LA PULPE DE BOIS ET DU PAPIER	I7
III - TOXICOLOGIE GENERALE DU MERCURE ET DE SES COMPOSES	I8
A - SYMPTOMES DE L'ACTION TOXIQUE DU MERCURE ET DE SES COMPOSES	20
B - LES TRAITEMENTS	22
<u>CHAPITRE II - LES TECHNIQUES DE MICRODOSAGE DU MERCURE</u>	24
I - METHODES DE DETERMINATION DU MERCURE SOUS LA FORME MINERALE	24
A - LA MINERALISATION	25
I°) - Libération du mercure de l'urine	25
2°) - Minéralisation du sang et des tissus animaux	25
3°) - Minéralisation des matières végétales	26
B - L'ISOLEMENT DU MERCURE ET LES METHODES DE DOSAGE	27
I°) - Dosage spectrographique des traces de mercure par la raie d'absorption 2537 Å	27
2°) - Méthodes par activation	29
3°) - Les méthodes colorimétriques	30

II - METHODES DE DETERMINATION DU COMPOSE ORGANOMERCURIEL	36
A - TECHNIQUES D'EXTRACTION	36
1°) - Extraction des composés phényl et méthylmercuriels	37
2°) - Méthode générale d'extraction des organomercuriels	38
B - SEPARATION ET DOSAGE	38
1°) - La chromatographie en couches minces	38
2°) - La chromatographie en phase gazeuse	40
III - TECHNIQUE DE MICRO-DOSAGE UTILISEE DANS NOTRE ETUDE	42
A - PRINCIPE	42
B - REACTIFS	42 bis
C - MINERALISATION	43
1°) - Minéralisation de l'urine	43
2°) - Minéralisation du sang, des tissus animaux, des ma- tières végétales	43
D - SEPARATION DU MERCURE	47
1°) - Cas de l'urine	47
2°) - Cas du sang, des tissus animaux, des matières végétales	47
E - DOSAGE TITRIMETRIQUE	48
1°) - Cas de l'urine	48
2°) - Cas du sang, des tissus animaux et végétaux	50
F - DISCUSSION	52
1°) - La minéralisation	52
2°) - Isolement du mercure	53
3°) - Dosage titrimétrique	54
 <u>CHAPITRE III - ETUDE TOXICOLOGIQUE</u>	 55
I - ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE	55
DETERMINATION DE LA DL 50 DU SILICATE DE METHOXY- ETHYLMERCURE	55
II - ETUDE DE LA TOXICITE A COURT TERME	62
PROTOCOLE EXPERIMENTAL	63
ETUDE DES EFFETS DE L'INTOXICATION A COURT TERME	63
1°) - Sur la courbe pondérale	64
2°) - Sur la reproduction	78
3°) - Sur la formule sanguine	78
4°) - Sur les caractéristiques histologiques des principaux organes	81
5°) - Effets sur l'appareil urinaire du silicate de méthoxy- éthylmercure	82

III - ETUDE DE LA REPARTITION DU MERCURE DANS L'ORGANISME ET DE SON ELIMINATION AU COURS DES INTOXICATIONS EXPERIMENTALES CHEZ LE RAT	85
A - ETUDE DE LA REPARTITION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS	87
1°) - Etude de la répartition du mercure en fonction de la durée de l'intoxication	87
2°) - Etude de la répartition du mercure en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication	89
B - ETUDE DU RYTHME D'ELIMINATION DU MERCURE AU COURS DES INTOXICATIONS EXPERIMENTALES CHEZ LE RAT	91
1°) - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la durée de l'intoxication	92
2°) - Etude du rythme d'élimination urinaire en fonction de la dose administrée au cours de l'intoxication	97
3°) - Etude de l'importance respective de l'excrétion urinaire et fécale	97
IV - SUR LA PRESENCE DE MERCURE DANS QUELQUES ANIMAUX SAUVAGES ET SUR SA SIGNIFICATION TOXICOLOGIQUE	105
A - EXAMEN TOXICOLOGIQUE DES CADAVRES DE GIBIER RECUEILLIS EN FRANCE DANS LES CHASSES	105
1°) - Identification des produits de traitement de semences dans les cadavres de gibier	105
2°) - Etude de la teneur en mercure des cadavres de gibier	107
B - RECHERCHES EXPERIMENTALES	108
1°) - Détermination des quantités de mercure contenues dans les viscères après ingestion unique ayant entraîné la mort	108
2°) - Détermination des quantités de mercure contenues dans les viscères après administration répétée de petites doses de silicate de méthoxyéthylmercure	109
C - INTERPRETATION DES RESULTATS	111
V - CONCLUSIONS	114
BIBLIOGRAPHIE	118

